

UNIVERSITE DE SHERBROOKE

**LES CHANGEMENTS DE PERMEABILITE CAPILLAIRE AU COURS DU
SYNDROME NEPHROTIQUE EXPERIMENTAL: EFFETS DU FUROSEMIDE**

PAR

LEONIE FONKOUA

Département de pharmacologie

Mémoire présenté à la Faculté de médecine
en vue de l'obtention du grade de
maître ès sciences (M. Sc.)

Octobre 1994



National Library
of Canada

Acquisitions and
Bibliographic Services Branch

395 Wellington Street
Ottawa, Ontario
K1A 0N4

Bibliothèque nationale
du Canada

Direction des acquisitions et
des services bibliographiques

395, rue Wellington
Ottawa (Ontario)
K1A 0N4

Your file *Votre référence*

Our file *Notre référence*

THE AUTHOR HAS GRANTED AN
IRREVOCABLE NON-EXCLUSIVE
LICENCE ALLOWING THE NATIONAL
LIBRARY OF CANADA TO
REPRODUCE, LOAN, DISTRIBUTE OR
SELL COPIES OF HIS/HER THESIS BY
ANY MEANS AND IN ANY FORM OR
FORMAT, MAKING THIS THESIS
AVAILABLE TO INTERESTED
PERSONS.

L'AUTEUR A ACCORDE UNE LICENCE
IRREVOCABLE ET NON EXCLUSIVE
PERMETTANT A LA BIBLIOTHEQUE
NATIONALE DU CANADA DE
REPRODUIRE, PRETER, DISTRIBUER
OU VENDRE DES COPIES DE SA
THESE DE QUELQUE MANIERE ET
SOUS QUELQUE FORME QUE CE SOIT
POUR METTRE DES EXEMPLAIRES DE
CETTE THESE A LA DISPOSITION DES
PERSONNE INTERESSEES.

THE AUTHOR RETAINS OWNERSHIP
OF THE COPYRIGHT IN HIS/HER
THESIS. NEITHER THE THESIS NOR
SUBSTANTIAL EXTRACTS FROM IT
MAY BE PRINTED OR OTHERWISE
REPRODUCED WITHOUT HIS/HER
PERMISSION.

L'AUTEUR CONSERVE LA PROPRIETE
DU DROIT D'AUTEUR QUI PROTEGE
SA THESE. NI LA THESE NI DES
EXTRAITS SUBSTANTIELS DE CELLE-
CI NE DOIVENT ETRE IMPRIMES OU
AUTREMENT REPRODUITS SANS SON
AUTORISATION.

ISBN 0-612-04565-X

Canada

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES.....	i
LISTE DES FIGURES.....	vi
LISTE DES TABLEAUX.....	viii
RESUME.....	x
INTRODUCTION.....	1
1. HISTORIQUE: Anatomie et importance des reins	
1.1 Le néphron.....	2
1.2 Le glomérule.....	2
1.3 Le tubule rénal.....	5
2. Les compartiments liquidiens de l'organisme.....	6
2.1 Distribution normale de l'eau.....	6
2.2 Description des volumes de l'organisme.....	9
2.2.1 Volumes extracellulaires.....	9
2.2.2 Volume cellulaire.....	15
2.3 Contrôle du bilan interne des volumes de l'organisme.....	16
2.3.1 L'endothélium capillaire.....	16
2.3.2 Membrane plasmique.....	19
3. LA MICROCIRCULATION.....	20
3.1 Structure et fonction.....	20
3.1.1 Les artérioles, les métartérioles, les veinules.....	20
3.1.2 Les capillaires.....	21
3.2 Physiopathologie de la circulation capillaire.....	28
3.2.1 Modification des volumes plasmatique et interstitiel....	28
3.2.2 Modification locale du volume interstitiel.....	29

4. LE SYNDROME NEPHROTIQUE.....	29
4.1 Définition.....	29
4.2 Symptômes.....	30
4.3 Etiologies.....	32
4.4 Modèles expérimentaux.....	32
5. TRAITEMENT DIURETIQUE DU SYNDROME NEPHROTIQUE.....	33
5.1 Classification des agents diurétiques.....	33
5.2 Importance du furosémide.....	34
5.3 Mécanisme d'action.....	34
6. OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	35

MATERIEL ET METHODES.

1. Groupes expérimentaux.....	36
2. Etude de perméabilité capillaire.....	37
3. Etude des paramètres hémodynamiques rénaux.....	38
4. Produits chimiques utilisés.....	39
4.1 La puromycine aminonucléoside.....	39
4.2 Le furosémide.....	39
4.3 Le bleu d'Evans.....	39
4.4 La solution de Krebs.....	39
5. STATISTIQUES.....	40

RESULTATS.....

1. EFFETS DE LA PUROMYCINE.....	41
1.1 Protéinurie.....	41
1.2 Natriurèse.....	41
1.3 Diurèse.....	42

1.4 Perméabilité capillaire.....	42
2.EFFETS DU FUROSEMIDE.....	57
2.1 Natriurèse et diurèse.....	57
2.2 Perméabilité capillaire.....	58
2.3 Protéinurie.....	58
3. LES PARAMETRES HEMODYNAMIQUES RENAU.....	83
DISCUSSION.....	85
Observations pertinentes de l'étude.....	85
1. Profil de la natriurèse en fonction du temps.....	86
2. Anomalies de la perméabilité extra-rénale.....	91
3. Réponse des animaux au furosémide.....	97
4. L'effet du furosémide sur la protéinurie.....	103
1. PROFIL DE LA NATRIURESE EN FONCTION DU TEMPS.....	85
RAPPEL DES RESULTATS.....	86
1.1 PROBLEME RENAL INTRINSEQUE.....	87
1.2 REPONSE HORMONALE.....	88
2. ANOMALIES DE LA PERMEABILITE CAPILLAIRE EXTRA-RENALE	
2.1 HETEROGENEITE DE LA DISTRIBUTION TISSULAIRE DU BLEU D'EVANS	
Hétérogénéité des capillaires.....	91
MORPHOLOGIE DES CELLULES ENDOTHELIALES.....	93
Implication du calcium.....	94
2.2 FONCTIONNEMENT DES CELLULES ENDOTHELIALES.....	95
Modulation des résistances pré- et post-capillaires.....	95
Modulation de la perméabilité capillaire.....	96
3. REPONSE DES ANIMAUX AU FUROSEMIDE.....	97

HYPOTHESES SUR LE MECANISME DE RESISTANCE ET NON RESISTANCE

4. EFFETS DU FUROSEMIDE SUR LA PROTEINURIE.....	103
RAPPEL DES RESULTATS.....	103
HYPOTHESES.....	104
CONCLUSION.....	105
REMERCIEMENTS.....	107

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Répartition et segmentation des deux types de néphrons.	4
Figure 2: Transfert de solutés dans la branche ascendante large de l'anse Henle.....	8
Figure 3: Distribution de l'eau dans différents organes.....	12
Figure 4: Structure du lit vasculaire.....	13
Figure 5: Compartiments liquidiens de l'organisme.....	14
Figure 6: Diagramme schématique montrant la filtration et la réabsorption le long du capillaire.....	18
Figure 7: Différents types d'endothélium capillaires.....	26
Figure 8: Anatomie du glomérule.....	27
Figure 9: Effets de la puromycine sur la protéinurie.....	45
Figure 10: Effets de la puromycine sur la natriurèse.....	47
Figure 11: Effets de la puromycine sur la diurèse.....	49
Figure 12: Néphropathie à la puromycine et perméabilité capillaire mesurée à onze jours dans les organes thoraciques.....	52
Figure 13: Néphropathie à la puromycine et perméabilité capillaire mesurée à onze jours dans les organes splanchniques.....	54
Figure 14: Néphropathie à la puromycine et perméabilité capillaire mesurée à onze jours dans les organes périphériques.....	56
Figure 15: Effets du furosémide sur la natriurèse.....	60
Figure 16: Effets du furosémide sur la diurèse.....	62
Figure 17: Néphropathie à la puromycine et les effets du furosémide sur la natriurèse.....	64

Figure 18: Néphropathie à la puromycine et les effets du furosémide sur la diurèse.....	66
Figure 19: Néphropathie à la puromycine et l'effet du furosémide sur la perméabilité capillaire à onze jours dans les organes thoraciques.....	68
Figure 20: Néphropathie à la puromycine et l'effet du furosémide sur la perméabilité capillaire à onze jours dans les organes splanchniques.....	70
Figure 21: Néphropathie à la puromycine et l'effet du furosémide sur la perméabilité capillaire à onze jours dans les organes périphériques.....	72
Figure 22: Néphropathie à la puromycine et l'effet du traitement (furosémide) sur la protéinurie.....	74
Figure 23: Néphropathie à la puromycine et l'effet du traitement (furosémide) sur le rapport poids sec/poids humide dans les organes thoraciques.....	77
Figure 24: Néphropathie à la puromycine et l'effet du traitement (furosémide) sur le rapport poids sec/poids humide dans les organes splanchniques.....	79
Figure 25: Néphropathie à la puromycine et l'effet du traitement (furosémide) sur le rapport poids sec/ poids humide dans les organes périphériques.....	81
Figure 26: Profil du poids corporel des rats néphrotiques.....	82

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Perméabilité glomérulaire aux macromolécules.....	31
Tableau 2: Effets de la puromycine sur la perméabilité capillaire au jour quatre.....	50
Tableau 3: Effets du furosémide sur la perméabilité capillaire dans la néphropathie à la puromycine au jour quatre..	
Tableau 4: Effets du furosémide sur le rapport poids sec/poids humide dans la néphropathie au jour quatre.....	75
Tableau 5: Paramètres hémodynamiquesrénaux.....	84

LISTE DES ABREVIATIONS

BE:	Bleu d'Evans
ESM:	Erreur Standard à la Moyenne (ECART TYPE)
PAN:	Puromycine
NAR:	Rats Analbumimémiques
Furo:	Furosémide
P:	Poumon
C:	Coeur
BI:	Bronche Interne
R:	Rein
F:	Foie
PC:	Pancréas
D:	Duodénum
PE:	Peau
MS:	Muscle Squelettique
IV:	Intraveineux

RESUME

Mémoire de maîtrise de Léonie A. Fonkoua , Département de pharmacologie

Les changements de perméabilité capillaire au cours du syndrome néphrotique expérimental:effets du furosémide.

Le travail de recherche a pour but de caractériser les anomalies de perméabilité capillaire de différents tissus dans un modèle expérimental d'oedème, et d'évaluer l'effet d'un traitement au furosémide.

Le syndrome néphrotique est associé à une anomalie de la distribution des liquides dans l'organisme. Il comprend une albuminurie massive, une hypoalbuminémie, des oedèmes généralisés et une hyperlipidémie caractérisée par une élévation du cholestérol plasmatique.

Quatre groupes de rats Wistars sont étudiés : 1- normaux sans traitements ; 2- néphrotiques par la puromycine ; 3- normaux traités au furosémide ; et 4- néphrotiques traités au furosémide. Nos résultats montrent qu'il existe au début une rétention hydrosodée avec résistance au diurétique (furosémide) , suivie plus tard d'une natriurèse accrue avec une meilleure réponse au diurétique. Le furosémide accentue la protéinurie dans ce modèle expérimental de syndrome néphrotique.

Les anomalies de perméabilité capillaire au BE révèlent une augmentation dans le rein en phases précoce et tardive. Une diminution importante dans le muscle squelettique (réservoir d'eau) est observée en phase tardive. Cette anomalie est corrigée par le furosémide, ce qui pourrait expliquer en partie la réponse diurétique plus efficace à ce moment. Il est également possible qu'une augmentation de la biodisponibilité du furosémide par voie de filtration (cet agent étant lié à l'albumine), participe également à la lignée du phénomène de non résistance noté en phase tardive.

INTRODUCTION

1. HISTORIQUE: Anatomie et importance des reins

La structure tubulaire rénale fut reconnue pour la première fois par BELLINI en 1662. Ce dernier décrivit la section du néphron qui porte son nom. Quatre ans plus tard, les études microscopiques de Malpighi donnèrent une confirmation de la complexité du système tubulaire rénal. Les études morphologiques précises de BOWMAN en 1842 précisèrent davantage la connaissance de la structure du néphron, en particulier du glomérule. A cette époque, LUDWIG étudia l'anatomie microscopique des reins, et ses découvertes furent en accord avec celles de BOWMAN.

A partir de ses études sur les relations existant entre la pression du sang artériel rénal et le débit tubulaire, il développa une théorie physique sur la formation de l'urine qui commence au niveau du glomérule par la séparation d'un ultrafiltrat de plasma, qui ne contient pas de protéines, la force nécessaire à l'ultrafiltration étant fournie par la pression hydrostatique originant du débit cardiaque. LUDWIG avait affirmé que les capillaires glomérulaires étaient semi-perméables, ce qui permettait le libre passage d'eau et des substances dissoutes de petites dimensions, tandis qu'il retenait les colloïdes et les éléments figurés du sang. De nos jours, sa théorie sur l'ultrafiltration glomérulaire est toujours en force.

1.1 Le néphron

Le rein est un organe tubulaire complexe, composé d'un grand nombre d'unités fonctionnelles ou néphrons; ceux-ci élaborent l'urine à partir du plasma qu'ils filtrent au niveau du glomérule. Chaque néphron (voir fig. 1) est constitué d'un corpuscule rénal ou malpighien qui comprend le glomérule entouré de la capsule de BOWMAN, et suivi du tubule rénal se terminant par un tube collecteur commun à plusieurs néphrons.

1.2 Le glomérule

C'est le peloton situé dans le cortex et qui constitue la partie initiale du néphron. La membrane basale accolée aux multiples replis des anses capillaires fusionne avec l'adventice de l'artériole afférente qui irrigue le glomérule et celle de l'artériole efférente qui le draine.

En effet, l'artériole afférente se divise en un réseau capillaire glomérulaire dense, enroulé autour d'une tige mésangiale. Ce réseau capillaire qui conflue pour donner l'artériole efférente qui sort du glomérule, est contenu dans la capsule de BOWMAN s'ouvrant dans la lumière du tube proximal (PITTS, 1968). Le glomérule est le siège de la formation de l'urine primitive qui est un ultrafiltrat du plasma.

Les capillaires glomérulaires fonctionnent à la manière d'un ultrafiltre, comme s'ils étaient perforés par des pores cylindriques de 75-100 Å de diamètre (PAPPENHEIMER et al., 1951).

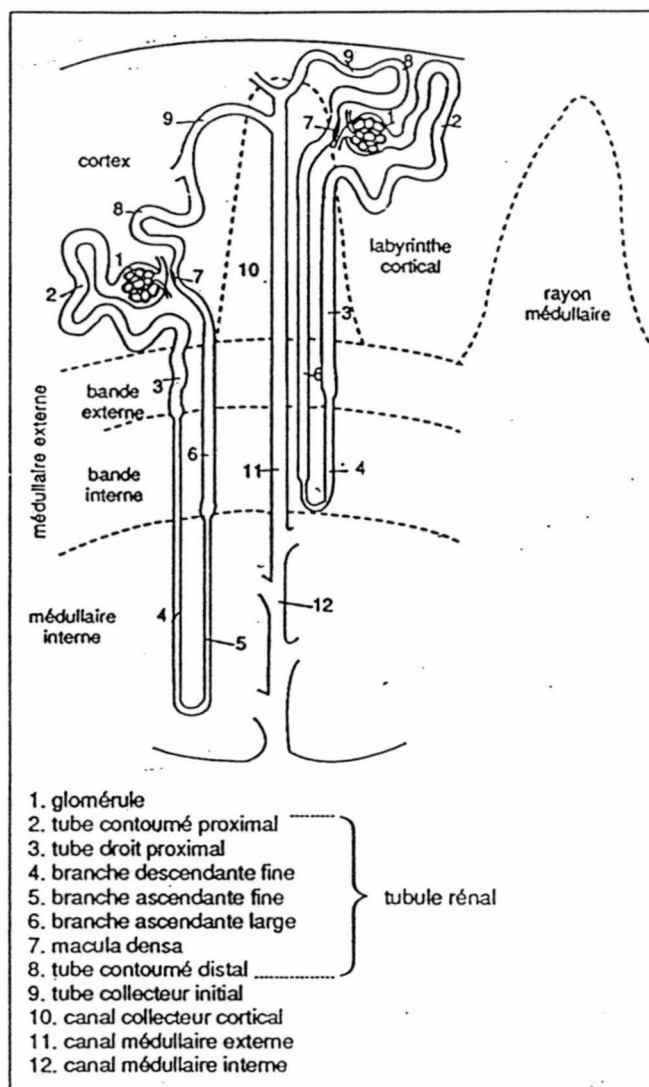


Figure 1: Répartition et segmentation des deux types de néphrons.

D'après Guénard et al., 1991.

1.3 Tubule rénal

L'ultrafiltration du plasma à travers la membrane glomérulaire délivre au tubule rénal un liquide dont la composition est voisine de celle du plasma moins les macromolécules. Le rôle du tubule est de séparer les substances qui doivent être conservées dans l'organisme (pour maintenir constante la composition du milieu intérieur), des substances qui doivent être éliminées dans les urines, comme les produits de dégradation du métabolisme azoté ou les substances étrangères (GUENARD et al., 1991).

Le tubule apparaît comme une succession de segments: tubule proximal, anse de Henle, tubule distal et tubule collecteur (voir fig. 1) ayant une organisation intrarénale précise. Les principales fonctions du tubule rénal sont: **premièrement**, de réabsorber la majeure partie de l'eau et des substances dissoutes filtrées par le glomérule tels certains électrolytes (sodium, potassium, chlore...) ainsi que certaines substances organiques tels que les acides aminés, le glucose, certains acides organiques; **deuxièmement**, de réabsorber par endocytose la petite quantité de protéines qui a traversé la membrane glomérulaire; **troisièmement**, de favoriser l'élimination des déchets organiques, et de commencer l'acidification de l'urine; **quatrièmement**, de sécréter certains médicaments introduits dans l'organisme (c'est le cas des diurétiques de l'anse de Henle, tel le furosémide), phénomène qui prend place surtout au niveau de la pars recta (GUENARD et al., 1991). L'anse de Henle est situé à la fin du tube contourné

proximal et le début du tube contourné distal, et présente successivement une branche descendante fine, et une branche ascendante fine, puis large (voir fig.1). Cette dernière est le siège d'une réabsorption active du sodium par la pompe Na K ATPase située sur la membrane basolatérale de l'épithélium. Cette action permet le maintien d'une faible concentration de sodium intracellulaire, ce qui permet au sodium luminal de pénétrer dans la cellule, essentiellement par le cotransporteur neutre faisant passer 1 Na, 1 K, et 2 Cl à travers la membrane luminale (voir fig. 2); ce cotransporteur est inhibé par le furosémide.

2. LES COMPARTIMENTS LIQUIDIENS DE L'ORGANISME

2.1 Distribution normale de l'eau

L'eau est le plus abondant constituant du corps humain et représente chez l'adulte, environ 60% du poids corporel. Elle se répartit dans trois compartiments: l'intravasculaire, l'interstitiel, et l'intracellulaire dont les volumes représentent respectivement, 5%, 15% et 40% du poids corporel (ELDEMAN et LIEBMAN, 1959). La distribution du fluide dans l'organisme varie selon plusieurs paramètres. 1- L'âge: il représente 80% du poids corporel chez le fœtus, et environ 50% chez le vieillard (FERNANDEZ L.A. et al., 1966; MULLINS, 1988). 2- Le poids: la maigreur est associée à une fraction d'eau plus importante, l'obésité à une plus petite (PITTS, 1968). 3- Le sexe: SCHLOERB et

al., (1950) ont mesuré 63% d'eau chez l'homme et 57% chez la femme, puisque celle-ci possède plus de tissus adipeux. En ce qui concerne certains organes spécifiques: la peau, le muscle squelettique et le système digestif, ils renferment la plus grande réserve d'eau de l'organisme (voir fig.3).

2.2 Description des volumes de l'organisme

2.2.1 Volume extracellulaire

Il est constitué de deux secteurs séparés par l'endothélium capillaire. Le secteur vasculaire est composé d'artères de distribution et de résistance, de capillaires, de veinules post-capillaires, enfin de veines collectrices. La microcirculation qui entrepose la plus grande partie du volume sanguin commence aux artérioles d'un diamètre de 30 μm (BERNE et LEVY, 1986) qui leur permet de faire varier de manière très précise la résistance à l'entrée du sang dans les capillaires vrais. L'abouchement initial de ces capillaires est entouré de fibres musculaires circulaires appelées sphincter précapillaire (voir fig. 4). La paroi des capillaires et des veinules post-capillaires présente une simple couche de cellules endothéliales où ont lieu les échanges. On constate qu'une partie importante du volume sanguin est contenue dans ce réseau. Tous les capillaires d'un territoire déterminé ne sont pas fonctionnels simultanément. Le débit sanguin intermittent, proportionnel à l'activité locale, se répartit d'une manière hétérogène entre différents organes: les organes périphériques tels que la peau et le muscle squelettique reçoivent 25% du débit cardiaque, les organes splanchniques 50% (le tractus gastro-intestinal 28% et les reins 23%) et enfin les autres organes vitaux tels que le cerveau et le coeur qui reçoivent respectivement 14% et 5% du débit cardiaque (GUYTON et al., 1982).

Une distribution anormale de flux sanguin dans ces organes entraîne un déséquilibre dans la répartition liquidienne de l'organisme.

Le secteur interstitiel est séparé du compartiment vasculaire par l'endothélium capillaire, et du compartiment cellulaire par les membranes plasmiques semi-perméables des différentes masses cellulaires (voir fig. 5). Ce compartiment présente aussi une hétérogénéité dans sa composition et sa répartition selon les organes (WIGG et al., 1992). En effet, il est constitué en grande partie (90%) de tissu interstitiel lâche où il existe une bonne dynamique d'échange, et de tissu interstitiel dense (10%) où la circulation de fluide et de solutés se fait lentement à cause, entre autre, du phénomène d'exclusion de l'albumine. Encore ici, une hétérogénéité importante existe entre les différents tissus: les proportions relatives de tissu fibrillaire et amorphe varie considérablement. L'interstitium est composé de tissus fibrillaires, d'une substance amorphe et d'une variété de cellules comprenant principalement les fibroblastes et les cellules hématopoïétiques. Les fibroblastes sont impliqués dans la production de composés de la matrice extracellulaire et la relâche des protéinases (MC DONALD, 1988; KJELLEN et LINDAHL, 1991) qui assurent l'intégrité et les caractéristiques physico-chimiques de ce compartiment. La composante fibrillaire est constituée de collagène et de fibronectine (MC DONALD, 1988), qui vient s'attacher à la surface cellulaire et/ou des membranes basales de l'épithélium et de l'endothélium, ou avec d'autres protéines d'ancrage. Elle joue un rôle important dans le maintien des

différents composés de l'espace interstitiel (RUOSLAHTI et al., 1987). La présence de collagène et de glycoaminoglycans limitent l'accessibilité de l'albumine et d'autres macromolécules dans le secteur interstitiel, ce qui se traduit par le phénomène d'exclusion de l'albumine (WIGG et al., 1992). Ce phénomène varie considérablement d'un organe à l'autre. Il en est de même pour la distribution des fibres de collagènes (WIGG et al., 1992). La substance amorphe est constituée surtout de protéoglycans qui sont chargés négativement (BEVANS et JOYCE, 1990). Pour ce qui est de la distribution du fluide interstitiel, il représente dans le muscle, et la peau, respectivement 60 et 380 ul/g de tissus secs (WIGG et al., 1992). Selon AUKLAND et NICOLAYSEN (1981), le volume interstitiel représente dans les organes périphériques et viscéraux respectivement 58 et 15% du poids corporel.

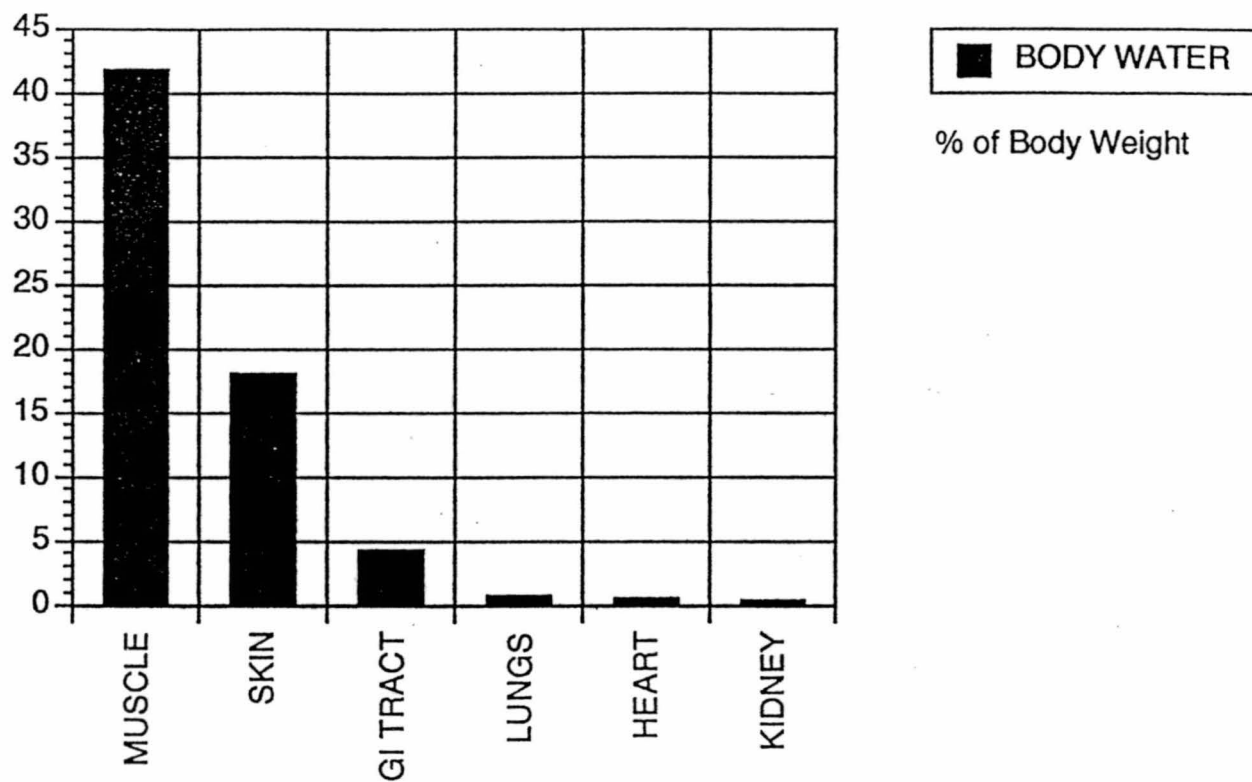


Figure 3: Distribution de l'eau dans différents organes (étude chez un adulte). Wigg et al; 1992

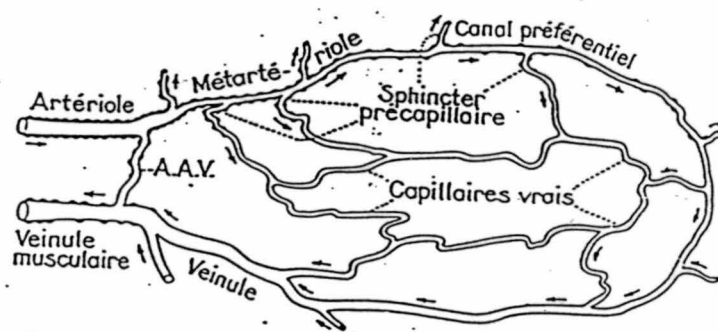


Figure 4: Structure du lit vasculaire terminal (d'après Zweifach B. W., 1949).

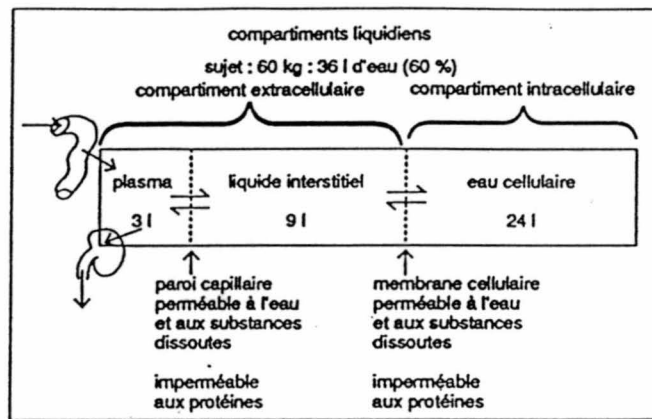


Figure 5: Compartiments liquidiens de l'organisme d'un sujet pesant 60 Kg et échanges d'eau et de substances dissoutes d'après Guénard et al., 1991.

2.2.2 Le volume cellulaire

Le liquide intracellulaire ne constitue un élément ni continu ni homogène. Il représente plutôt la somme des liquides contenus dans toutes les cellules de l'organisme (PITTS, 1968). Il constitue une fraction importante (40%) du poids de l'organisme. Toutefois, il varie d'un organe à l'autre. C'est le cas de la peau qui contient plus de fluide interstitiel que de volume cellulaire, contrairement au muscle squelettique où le rapport est inversé (WIGG et al., 1992). Le profil de la distribution intracellulaire des fluides entre le cytoplasme et les organelles varie également d'un tissu à l'autre. En effet, l'usine énergétique cellulaire, représentée par les mitochondries est caractérisée par une plus grande distribution du fluide cytoplasmique (ROBINSON, 1960) par rapport aux cellules impliquées dans une activité plus quiescente tels les ostéocytes et les cellules épithéliales de la peau. Quant au liquide transcellulaire, il représente 1 à 3% du poids corporel et comprend les sécrétions digestives, le liquide cérébro-spinal, et oculaire (PITTS, 1968).

2.3 Contrôle du bilan interne des liquides de l'organisme

2.3.1 L'endothélium capillaire

Les échanges à travers les compartiments vasculaires et interstitiels ont lieu au niveau de l'endothélium capillaire de la microcirculation et le contrôle est assuré par les forces de Starling. En effet, dans les conditions normales, le sang pénètre dans les précapillaires à une pression maximale de 40-45 mmHg (PITTS, 1968). Cette pression représente la force nécessaire pour pousser le sang dans les capillaires, les veinules et les veines vers le coeur; elle permet aussi la filtration des liquides à travers les parois capillaires vers les tissus interstitiels. Au début du capillaire, la pression hydrostatique étant supérieure à la pression oncotique (25 mmHg), produit le transfert net d'eau et de substances de faibles poids moléculaires dissoutes du plasma vers le compartiment interstitiel (voir fig. 6). Dans la deuxième partie du capillaire, la pression hydrostatique s'amenuise (15 mmHg) et devient inférieure à la pression oncotique (25 mmHg). On assiste à un retour d'eau et de substances dissoutes du secteur interstitiel vers le plasma. L'eau et les substances dissoutes qui sont passées dans le secteur interstitiel ne reviennent pas en totalité dans les veinules post-capillaires. Le volume d'eau restant quitte normalement le secteur interstitiel par les vaisseaux lymphatiques pour retourner dans la circulation centrale (Smith et Kampire, 1990). Le système lymphatique récupère aussi les

protéines qui sont passées à travers les parois capillaires. Ces mouvements peuvent être altérés dans plusieurs conditions morbides, telles les anomalies de la paroi vasculaire au cours des néphropathies, dans l'hypertension, (CHRISTENSEN et MULVANY, 1989), dans le diabète, l'insuffisance rénale et cardiaque.

La dilatation précapillaire entraîne dans les conditions pathologiques une augmentation du flux de liquide et des solutés dans l'interstitium; on alors assiste alors à un oedème interstitiel (voir fig. 6B). Par contre, la constriction précapillaire conduit à une augmentation du flux de liquide et des solutés dans le secteur vasculaire: il s'agit alors d'oedème vasculaire. En effet, la combinaison des paramètres telles que, la constriction post-capillaire et la dilatation précapillaire produisent une extravasation importante de fluide et de solutés dans l'interstitium; la dilatation post-capillaire en présence d'une résistance précapillaire élevée induit plutôt une entrée importante de fluide, de l'interstitium vers le compartiment vasculaire (PLANTE et al., 1994). Enfin, l'obstruction du drainage lymphatique est associée à des oedèmes locaux appelés "éléphantiasis" (SMITH et KAMPIRE, 1990).

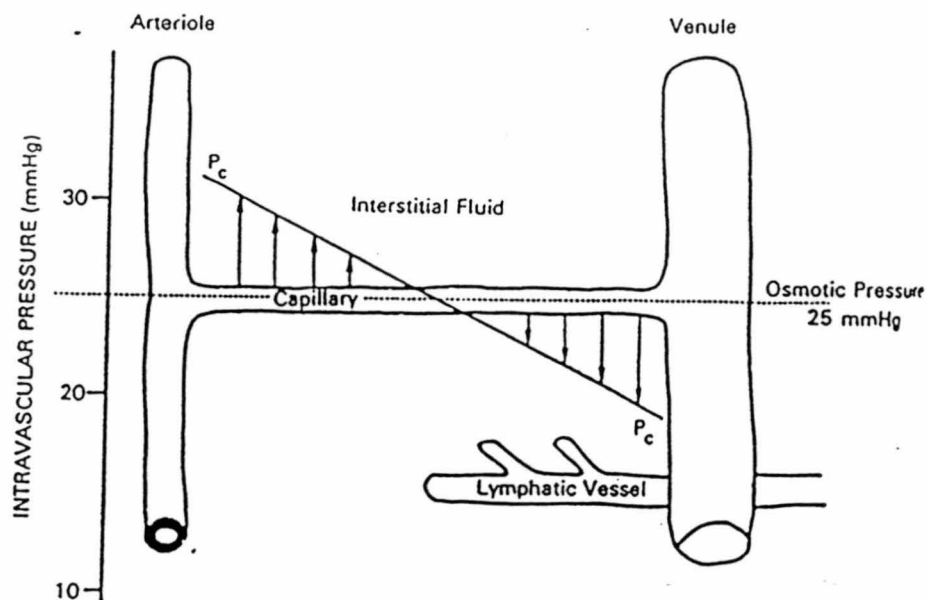
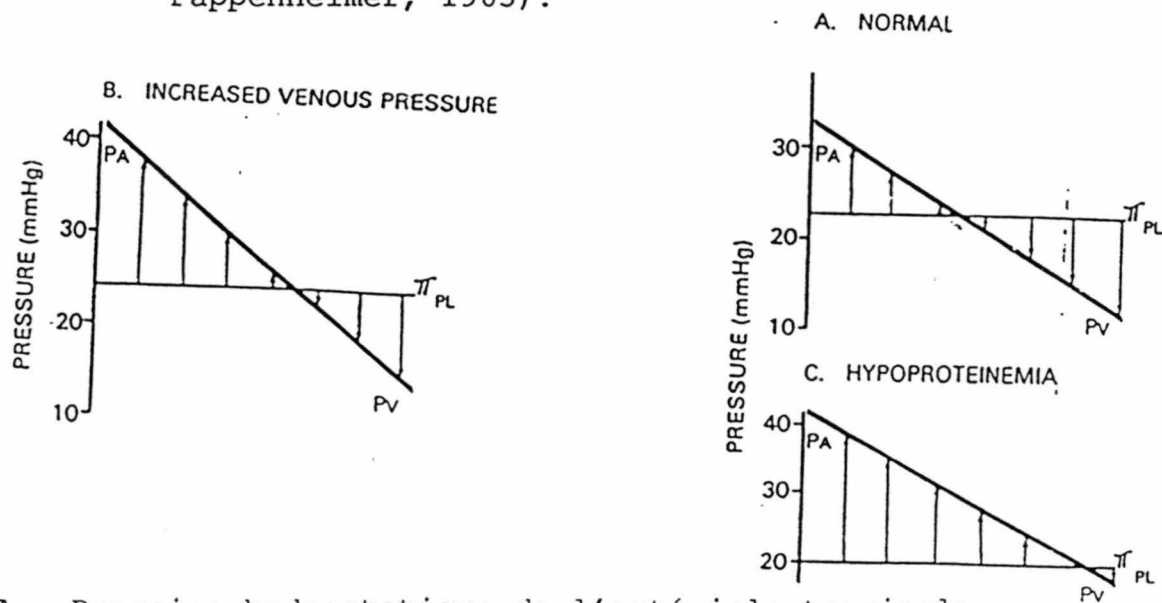


Figure 6: Filtration et réabsorption le long du capillaire. p_c : pression hydrostatique (modifié de Landis et Pappenheimer, 1963).



PA = Pression hydrostatique de l'artériole terminale.
 PV = Pression hydrostatique de la veinule terminale
 π_{pL} = Pression oncotique plasmatique

2.3.2 La membrane plasmique

La membrane plasmique des cellules constitue une importante barrière physiologique entre les deux plus grands volumes liquidiens de l'organisme, l'interstitium et la masse cellulaire. Certains mécanismes de transport pour les ions (tels que les pompes actives, les cotransporteurs, les canaux ioniques) les composés organiques et les macromolécules se retrouvent dans les cellules épithéliales, musculaires lisses et squelettiques. La pompe Na, K, ATPase représente le plus important système de transport membranaire en termes de contrôle de la balance interne des liquides. Elle se caractérise par une haute consommation d'énergie dans les cellules vivantes. Son activité est responsable du maintien de la faible concentration du sodium intracellulaire qui détermine l'activité de plusieurs mécanismes de transport secondaire d'ions, tels l'échangeur sodium-calcium (VANBREEMEN et al., 1979), l'antiporteur sodium-hydrogène (GRINSTEIN et ROTHSTEIN, 1986), les cotransporteurs sodium-phosphate (JACK et HUANG, 1989), et sodium- potassium-chlorure (OWEN, 1984). Bien que ces pompes, transporteurs et canaux ioniques soient présents sur la plupart des membranes plasmiques, leur distribution n'est pas homogène dans toutes les cellules. En effet, ces protéines membranaires sont réparties dans la région polaire de la membrane cellulaire des cellules épithéliales rénales et digestives qui jouent un rôle dans le transport net des solutés (MACKNIGHT et LEAF, 1977).

Sur les autres types cellulaires (muscle, cellules osseuses et

nerveuses), les protéines membranaires de transport se distribuent sur tout le pourtour des cellules (cellules non «polarisées»).

3. LA MICROCIRCULATION

La circulation capillaire est le seul secteur du système circulatoire où se produit un échange important entre le sang et le volume interstitiel; son étendue sur une très grande surface, montre son importance lors des échanges.

3.1 Structure et fonction

La microcirculation constitue une unité morphologique et fonctionnelle englobant la portion terminale des vaisseaux qui apportent le sang, la portion initiale de ceux qui le drainent, et les segments intermédiaires constitués uniquement de tubes endothéliaux (voir fig. 4).

3.1.1 Les artérioles, les métartérioles, les veinules

Les artérioles apportent le sang aux tissus. Leur diamètre est de 20 à 50 μm , avec une paroi riche en muscles lisses (BERNE et LEVY, 1986). Leur diamètre peut varier ce qui leur permet de modifier d'une manière très importante la résistance à l'écoulement sanguin et par conséquent, le débit local. A l'artériole, fait suite la métartériole qui perd progressivement sa gaine de muscles

lisses, et se prolonge sous forme de tubes endothéliaux, encore appelés canaux de passage (ZWEIFACK, 1949; 1961). Il donne naissance aux capillaires vrais dont l'abouchement initial est muni de sphincters précapillaires, pour se terminer par les veinules et les veines qui constituent un important réservoir sanguin.

Les veinules recueillent le sang qui a participé aux échanges capillaires. Leur diamètre est un peu supérieur à celui des artérioles et leur paroi est plus mince. Cependant, une couche musculaire lisse leur confère des propriétés vasomotrices non négligeables (BERNE et LEVY, 1986).

3.1.2 Les capillaires

Les capillaires varient considérablement selon les tissus, sur le plan anatomique et fonctionnel. Ces différences sont habituellement reliées au rôle spécifique des différents tissus (SMITH et KAMPIRE, 1990). Par exemple, au niveau de la peau particulièrement des extrémités, les anastomoses artérioveineuse ont un large calibre contrairement aux capillaires des autres organes qui sont sous contrôle neurogénique (SMITH et KAMPIRE, 1990). Les capillaires vrais sont les unités fonctionnelles les plus importantes de la microcirculation. Ils se présentent sous forme de tubes de diamètre qui varie entre 7 et 10 μm , avec une paroi réduite à une couche de cellules endothéliales (BERNE et LEVY, 1986) entourées sur leur versant externe par une membrane basale. Ils se détachent à angle droit des canaux préférentiels ou

de passage (ZWEIFACK, 1949). Largement anastomosés entre eux, ces capillaires n'ont aucune vaso-motricité, leur régulation a lieu au niveau du sphincter précapillaire.

Des études récentes ont révélé qu'au moins 5% des protéines des cellules endothéliales sont constituées d'actine et de myosine qui représentent les éléments contractiles de la cytostructure. L'endothélium se contracte grâce à la présence de filaments qui régularisent la perméabilité (SMITH et KAMPIRE, 1990). Les études de microscopie électronique, ont permis d'élaborer trois types de capillaires (voir fig. 7). Les capillaires continus qui ne présentent pas d'ouverture intercellulaire, possèdent des jonctions serrées, suffisamment développées pour ne permettre que la diffusion des petites molécules. On les observe dans le muscle squelettique, les nerfs et le tissu adipeux. Ensuite, les capillaires fenêtrés qui ont des trous soit " fermés " comme dans les glandes endocrines, soit " ouverts " comme ceux du glomérule rénal (VENKATACHALAM et al., 1972). Enfin, les capillaires discontinus des sinusoides hépatiques qui présentent de larges trous intercellulaires avec une perméabilité plus grande aux protéines. La fonction spécifique de chaque tissu repose en partie sur la structure de leur réserve capillaire. On peut concevoir qu'il y ait un grand nombre de schémas de circulation capillaire et de microcirculation d'organes pour assurer les échanges avec le maximum d'efficacité. Le contrôle s'effectue par une modification du tonus des muscles lisses des artérioles, des métartérioles et des veinules, ainsi que par les sphincters précapillaires.

La paroi des capillaires glomérulaires qui représente la barrière de filtration, est composée de trois couches: de l'extérieur vers l'intérieur des capillaires, on rencontre d'abord une couche de cellules épithéliales aussi appelés podocytes (voir fig. 8) qui sont munis de multiples prolongements cytoplasmiques, des pédicelles, qui prennent appui sur la membrane basale des anses capillaires et qui présentent des vésicules de pinocytose (SMITH et KAMPIRE, 1990). La tige mésangiale autour de laquelle s'entourent les capillaires et les cellules épithéliales, joue un rôle majeur dans le maintien de la structure normale du glomérule. Au niveau des podocytes, des protéines spécialisées forment le glycocalyx: glycoaminoglycans, et glycoprotéines à fort résidu anionique (SIMIONESCU, 1980). Vient ensuite, la membrane basale proprement dite où repose l'endothélium; elle est constituée d'un squelette de collagène, de glycoprotéines et de fibronectine, cette dernière protéine interagissant avec les autres pour permettre à la membrane basale de devenir une véritable matrice pour les cellules endothéliales (ROUSLAHTI et ENGVALL, 1980). Enfin, les cellules endothéliales dont le cytoplasme contient des vésicules de pinocytose qui suggèrent un processus de transport transcellulaire actif.

L'endothélium présente aussi des mitochondries et des granules qui révèlent une activité sécrétrice. Les principales fonctions qui leur sont attribuées sont la production et/ou le métabolisme de nombreux autacoïdes et hormones vasoactives. Le contrôle de la

perméabilité capillaire implique aussi des interactions complexes avec les cellules sanguines lesquelles sont aussi impliquées dans les réactions inflammatoires.

Les macromolécules comme l'albumine ne traversent pas normalement l'endothélium, malgré la haute perméabilité des cellules fenêtrées du glomérule. Elles traversent doucement l'endothélium par la pino-endocytose qui est un transport actif, ou par le biais de la voie passive intercellulaire suivant la contraction cytosquelettique des cellules endothéliales et/ou par le ré-arrangement des complexes jonctionnels serrés (SIMIONESCU, 1983; WYSOLMERKI et LAGUNOFF, 1990; LEHOUX et PLANTE, 1993). Le dysfonctionnement de ces cellules dans certaines conditions anormales, lors d'études de perméabilité capillaire, a été observé par les techniques microscopiques d'immunofluorescence dans les cultures de cellules endothéliales (WYSOLMERKI et LAGUNOFF, 1990). L'interaction de ces cellules avec les cellules sanguines circulantes telles que les plaquettes et les polymorphonucléaires par le biais des molécules d'adhésion ont été étudiées (ELICES et al., 1990). Ce phénomène d'adhésion s'accompagne de modification de la réactivité vasculaire et la perméabilité endothéliale (SIROIS et al., 1990).

Les autacoïdes produits localement tels que la bradykinine, l'histamine, la substance P, et les processus associés à l'aggrégation plaquettaire sont responsables de l'hyperhémie rencontrée dans la réaction inflammatoire (HOEFFNER et VANHOUTTE,

1991). Les plaquettes peuvent induire une contraction de vaisseaux sanguins dépourvus d'endothélium. Toutes ces observations démontrent que les cellules endothéliales représentent plus qu'une simple couche cellulaire qui sépare le sang de l'interstitium. C'est une barrière physique qui peut moduler l'accès au muscle lisse, des agents vasoactifs (HOEFFNER et VANHOUTTE, 1991).

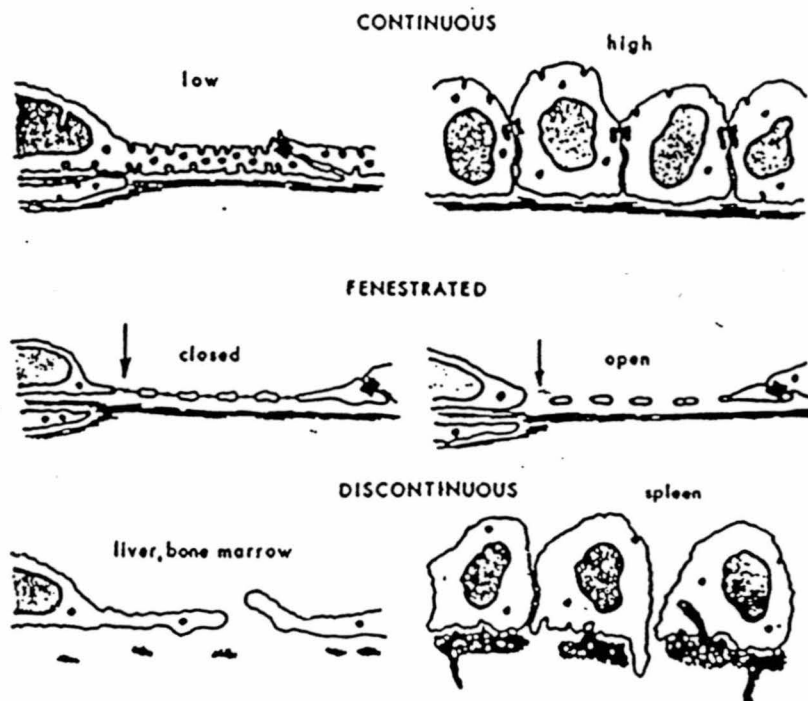


Figure 7: Différents types d'endothélium capillaire (d'après Smith et Kampire, 1990).

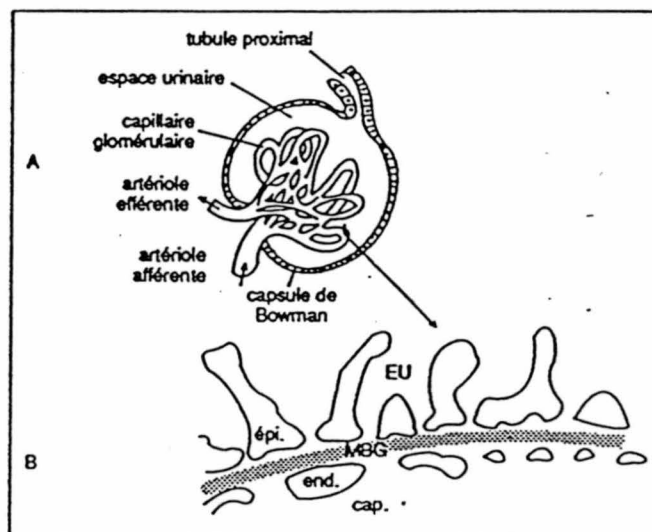


Figure 8: (A) Anatomie du glomérule. (B) Coupe histologique de la membrane glomérulaire: endothélium capillaire (end); membrane basale glomérulaire (MBG); cellules épithéliales (épi); espace urinaire (EU); capillaire (cap) d'après Guénard et al., 1991.

3.2. Physiopathologie de la circulation capillaire

3.2.1 Modification des volumes plasmatique et interstitiel

Une diminution primaire de la concentration plasmatique d'albumine s'accompagne d'une baisse de la pression colloïdo-osmotique capillaire, ce qui entraîne un passage d'eau et de substances dissoutes vers l'interstitium. L'hypovolémie résultante augmente la réabsorption rénale de sodium et d'eau, par l'intermédiaire de la stimulation des volo- et des barorécepteurs. Cela accentue la chute de la pression colloïdo-osmotique et le passage d'eau et de substances dissoutes du plasma vers l'interstitium. L'augmentation du volume interstitiel se fait progressivement avec apparition d'oedèmes. Le volume plasmatique ne se normalisant pas, conduit à la formation d'oedèmes auto-entretenu. De tels changements se rencontrent dans les pathologies suivantes: insuffisance hépatocellulaire (synthèse hépatique d'albumine diminuée), syndrome néphrotique, malnutrition (apport protidique nul ou insuffisant), entéropathie exsudative (fuite pathologique digestive d'albumine), insuffisance cardiaque décompensée. Dans ces situations la rétention rénale de sodium et d'eau s'accompagne d'une augmentation du volume extra cellulaire, le secteur interstitiel augmentant plus que le secteur plasmatique.

3.2.2. Modification locale du volume interstitiel

Une augmentation locale de la perméabilité capillaire aux protéines permet le passage des protéines des vaisseaux vers l'interstitium. La baisse consécutive de la concentration d'albumine plasmatique locale entraîne un passage d'eau vers le tissu interstitiel et la formation d'oedèmes localisés. L'augmentation de la perméabilité capillaire est une manifestation du processus inflammatoire.

Une obstruction lymphatique peut être responsable d'oedèmes, le plus souvent localisés dans une partie de l'organisme. En effet, ces oedèmes résultent d'une absence de drainage du liquide interstitiel par la lymphe d'où l'augmentation de la concentration en protéines dans le secteur interstitiel. Enfin, une obstruction veineuse localisée élève la pression hydrostatique dans les capillaires en amont et donc le passage d'eau et des solutés dans le secteur interstitiel, avec apparition d'oedèmes.

4. LE SYNDROME NEPHROTIQUE

4.1 Définition

C'est une affection rénale dans laquelle la membrane du glomérule laisse passer de grandes quantités de protéines du sang dans l'urine.

4.2 Symptômes

Autrefois, on classait les protéinuries selon qu'elles étaient associées ou non à une maladie systémique. De nos jours, on définit le syndrome néphrotique suivant la quantification de la protéinurie: 3.5 grammes ou plus par 24 heures par mètre carré de surface corporelle (BRENNER et RECTOR, 1986). Ces anomalies sont toutes caractérisées par l'augmentation de la clairance rénale de l'albumine secondaire à l'atteinte glomérulaire. Cette clairance est normalement égale à zéro. Les substances de poids moléculaire relativement faible comme l'inuline, les hormones polypeptides, la B2-microglobuline traversent librement le filtre glomérulaire (voir tableau 1). Leur concentration dans le filtrat est peu différente de celle dans le plasma. Les chaînes légères d'immunoglobulines dont le poids moléculaire est plus important traversent partiellement le filtre glomérulaire. La perte glomérulaire de l'albumine peut aussi être influencée par le degré d'atteinte de la filtration glomérulaire rencontré dans le syndrome néphrotique, et de l'atteinte tubulo-interstitielle associée. A long terme, la protéinurie s'accompagne d'une baisse de l'albumine sanguine, d'une élévation des lipoprotéines, enfin d'oedèmes généralisés. Les patients néphrotiques présentent, en plus des symptômes mentionnés ci-dessus, une activité rénine plasmatique très élevée (WYNGAARDEN et SMITH, 1988).

Tableau 1: Perméabilité glomérulaire aux macromolécules d'après Guénard et al., 1991.

	PM	CONCENTRATION FILTRAT CONCENTRATION PLASMA
Inuline	5 000	1
Hormones polypeptidiques	< 10 000	1
β_2 -microglobuline	11 000	0,95
Chaîne légère d'immunoglobuline	42 000	0,09
Albumine	69 000	< 0,01
Globulines	> 70 000	0
Myoglobine	17 000	0,75
Hémoglobine	68 000	0,05

4.3 Etiologies

Les maladies glomérulaires peuvent être classées en deux groupes. **Premièrement**, les maladies rénales primaires telles les glomérulopathies d'origine infectieuse ou immunologique (BRENNER et RECTOR, 1986). Le syndrome néphrotique peut également se rencontrer dans certaines néphropathies toxiques aux métaux lourds ou reliés à certains médicaments toxiques (aminoglycoside, pénicillamine, etc). **Deuxièmement**, les maladies rénales secondaires associées aux maladies systémiques tel que le diabète, l'amyloidose, les vasculites systémiques comme le lupus, la sclérodermie. Dans notre étude nous allons examiner une forme de néphropathie à lésion glomérulaire minime qui s'accompagne d'une augmentation pathologique de la perméabilité de la membrane glomérulaire à l'albumine.

4.4 Modèles expérimentaux

L'étude du syndrome néphrotique à la puromycine chez les rats montre des changements fonctionnels et structuraux très rapides. Sur le plan fonctionnel, rapidement dans ce modèle, il existe une rétention de sel caractérisée par des oedèmes généralisés, une diurèse basse et une protéinurie. Sur le plan structurel, certains organes tels que les reins sont hypertrophiés, avec une accumulation de liquide dans la cavité abdominale.

Le modèle de néphropathie à l'adriamycine (ADR) est associé à

une maladie glomérulaire chronique. Les rats néphrotiques à l'ADR présentent à court terme, une protéinurie massive associée à une modification structurelle et un fonctionnement rénal préservé. La pathologie rénale se développe à long terme; ce qui est semblable aux maladies rénales chroniques chez l'humain. Ainsi les lésions rénales à l'ADR sont plus prononcées que celles des rats traités à la puromycine, laquelle induit une altération minime du glomérule, ce qui est intéressant pour notre étude. Étant donné que les études de néphropathie révèlent à long terme un oedème réfractaire ou une résistance aux diurétiques puissants de l'anse de Henle, qui constitue une situation décevante sur le plan thérapeutique, il est intéressant de voir ce qui se passe pour des études à court terme.

5. TRAITEMENT DIURETIQUE DU SYNDROME NEPHROTIQUE

5.1 Classification des agents diurétiques

Les agents diurétiques peuvent être classés de différentes manières, selon leur mécanisme d'action, leurs sites d'action le long du néphron, selon leurs effets rénaux par rapport à leurs effets extra-rénaux. Cette dernière classification remplit mieux l'un des objectifs de notre étude, puisqu'elle se réfère aux mécanismes de contrôle des bilans externe et interne des liquides de l'organisme en conditions normales et en pathophysiologie (PLANTE et al., 1994). En effet, les effets extrarénaux des diurétiques comportent d'importantes actions sur les segments du

tractus digestif (CREPEAU et al., 1977), tel que le petit intestin, le colon, les glandes salivaires. Ces effets sont impliqués dans la balance externe des liquides. Plus intéressant encore, la plupart des diurétiques affectent le système vasculaire en modulant la contraction du muscle lisse artériel et veineux (VANBREEMEN et al., 1979; OWEN, 1984) et en modifiant la perméabilité endothéliale capillaire (LEHOUX et al., 1994).

5.2. Importance du furosémide

Le traitement des oedèmes néphrotiques nécessite l'utilisation des diurétiques puissants tel le furosémide qui agit sur l'anse de henle (INOUE et al., 1987). Aussi, les diurétiques de l'anse de Henle sont considérés comme une classe jouant un rôle central dans le traitement des maladies cardio-vasculaires et rénales. Ils sont puissants et généralement bien tolérés (REEVES et MOLONY, 1988).

5.3 Mécanisme d'action

Le furosémide est un agent diurétique puissant, avec des effets similaires à ceux de l'acide éthacrynique et de la bumétamine, mais diffère dans son mécanisme d'action (LANT, 1985). ODLIN (1979) a montré qu'il agit à la surface luminale de l'anse ascendante de Henle, en inhibant la réabsorption active de chlore. Il influence donc de ce fait, le fonctionnement du cotransport sodium, potassium, chlore (FEIG, 1986). Cela entraîne une excrétion

accrue de chlorure de sodium et de potassium. En plus, certains auteurs (WILLIAMSON, 1980) pensent qu'il peut agir comme inhibiteur de l'anhydrase carbonique. Cette inhibition entraîne une augmentation de l'excrétion de bicarbonate et une augmentation du pH urinaire (MC EVOY et al., 1987). Toutefois, ce diurétique qui est sécrété au niveau du tube proximal (pars recta) par un système non spécifique de transport des acides organiques, peut être bloqué par l'addition de probénecid. La réponse diurétique est déterminée par la quantité de drogue atteignant le site d'action et non par la quantité présente dans le plasma (CHENNAVASIN et al., 1979; HOOK et WILLIAMSON, 1965).

6. OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

Nous allons examiner premièrement, les anomalies de perméabilité capillaire au bleu d'Evans sur le rein et quelques tissus extrarénaux au cours d'un type d'oedème réfractaire chez le rat rendu néphrotique à la puromycine, deuxièmement, déterminer les paramètres hémodynamiques rénaux associés, troisièmement, évaluer l'effet d'un traitement au furosémide en regard des actions extrarénales connues de cet agent sur la perméabilité endothéliale du rat normal.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Groupes Expérimentaux

Des rats mâles de souche Wistar pesant entre 225 et 300g ont été utilisés dans nos expériences. Ils ont été placés dans les cages métaboliques individuelles pour une période témoin de neuf jours et des périodes expérimentales de quatre et onze jours, recevant quotidiennement de l'eau stérile salée (0.9% NaCl) et de la nourriture standard. Quatre groupes de rats ont été étudiés. 1- Les rats normaux non traités ont servi de témoins. 2- Les rats néphrotiques ayant reçu la puromycine par voie intrapéritonéale à une dose de 15 mg/100g de poids corporel. 3- Les rats normaux ayant reçu quotidiennement du furosémide par gavage à une dose de 1 mg/kg. 4- Des rats néphrotiques ayant été traités au furosémide. Les cages métaboliques ont permis le recueil quotidien des urines. Tous les jours, on a mesuré le volume d'eau consommé et la diurèse. Celle-ci a été analysée pour le contenu en sodium et en potassium à l'aide d'électrodes à ions sélectifs. Le contenu urinaire en protéines a été analysé par méthode colorimétrique. Contrairement aux rats contrôles qui présentent une protéinurie de 6 mg/24 h, les rats néphrotiques révèlent une excrétion protéique égale à 150 mg/24 h.

2. Etude de Perméabilité Capillaire

Nous avons utilisé la technique au Bleu d'Evans (BE). L'animal est maintenu dans une cage à contention pour minimiser les

mouvements. L'extrémité de la queue est passée à l'eau chaude afin de permettre la vasodilatation de la veine caudale. Le Bleu d'Evans est alors injecté (20 mg/kg). Après dix minutes, l'animal est sacrifié par décapitation à l'aide d'une guillotine et ensuite exsanguiné. Le thorax est ouvert rapidement afin de perfuser les poumons à l'aide d'une canule insérée dans l'artère pulmonaire, avec 15 ml d'une solution de Krebs dont le débit est réglé par une pompe péristaltique à 10 ml/min. Cette perfusion permet d'éliminer le colorant contenu dans la microcirculation pulmonaire. Les organes suivants sont disséqués avec soin: organes périphériques (muscle squelettique, peau), organes thoraciques (parenchyme pulmonaire, bronches internes et externes, coeur), organes splanchniques (foie, pancréas, duodénum, reins). Le choix de ces différents tissus est justifié par leur rôle dans le bilan externe de l'eau et des ions (coeur, duodénum, rein), et dans le bilan interne (muscle squelettique et peau). Les tissus sont pesés, puis une fraction de chaque tissu est mise dans la formamide (4 ml/g de tissu humide) à 20 °C alors que l'autre fraction est séchée dans un four à 60 °C pendant 24 heures. La concentration du BE extraite par la formamide est déterminée par spectrophotométrie (Titerlek Multiskan Flow Lab.) à 620 nm dans les plaques de 96 puits.

Les résultats obtenus sont comparés à une courbe standard de BE (0.5 -25 ug/ml de formamide). La quantité de BE de chaque échantillon est exprimée comme BE ug/g poids sec du tissu, pour éviter une sous évaluation liée à un oedème tissulaire. La perte ou le gain du liquide tissulaire est déterminée par le rapport du

poids sec/poids humide.

3. Étude des paramètres hémodynamiques rénaux

Les rats dont la fonction rénale a été examinée, ont été anesthésiés au pentobarbital (Nembutal sodium, Laboratoire ABBOTT, Toronto; 50 mg/kg par voie intrapéritonéale). L'artère et la veine fémorales ainsi que la vessie ont été canulées: l'artère pour mesurer la tension artérielle à l'aide d'un physiographe (moniteur cardiaque HP U.S.A), et prélever des échantillons sanguins; la veine pour infuser l'inuline marquée à l'iode 131 comme marqueur de la filtration glomérulaire. Avant de commencer les prélèvements, l'animal est mis en équilibration pendant une heure pour permettre une bonne distribution du marqueur. Trois échantillons urinaires sont recueillis de la vessie à des périodes de 20 minutes.

4. Produits Chimiques Utilisés

4.1 La puromycine aminonucléoside

La puromycine provient de Sigma Chem, (St Louis, U.S.A). Elle est d'abord dissoute dans la soude (NaOH 0.5N), et neutralisée ensuite à pH 7.40 par l'acide chlorhydrique (HCl 0.1N).

4.2 Le furosémide

Ce diurétique obtenu de Hoesch (Canada Inc.) est dissout dans une solution saline isotonique (0.9% NaCl).

4.3 Le Bleu d'Evans

Ce colorant a été obtenu de Sigma Chem, (St Louis, U.S.A). Chaque animal reçoit 25 mg/ml de BE dissout dans une solution saline isotonique (0.9% NaCl). Cette concentration révèle un index de liaison de 0.7 mole de BE par mole d'albumine, par conséquent, en deça des valeurs de saturation de l'albumine.

4.4 La solution de Krebs

Elle contient les sels suivants en mM: NaCl 117.5; KCl 4.7; $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 2.5; KH_2PO_4 1.8; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.18; dextrose 5.5 et NaHCO_3 25.0).

5. STATISTIQUES

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne plus ou moins l'écart type de la moyenne (\pm E.S.M.) et analysés de plus statistiquement avec le test t de student. Les valeurs de $P < 0.05$ sont considérées comme significatives. Le nombre de sujets expérimentaux (n) est supérieur ou égal à cinq dans chaque série d'expérience.

RESULTATS

1. EFFETS DE LA PUROMYCINE SUR LA PROTEINURIE, LA NATRIURESE, LA DIURESE ET LA PERMEABILITE CAPILLAIRE.

1.1. Protéinurie

L'une des caractéristiques du syndrome néphrotique est la présence de protéinurie massive. Cette dernière, observée chez des rats malades révèle une courbe exponentielle. En effet, dès le jour quatre on remarque une excrétion protéique significative qui devient massive par la suite. Aussi, la moyenne de celle-ci représente respectivement chez les rats malades et témoins: 150mg/24h versus 6mg/24h. Il s'agit du syndrome néphrotique, qui commence au jour quatre.

1.2. Natriurèse

Le profil de la natriurèse des rats néphrotiques varie en fonction du temps. En effet, on observe suite à l'injection intrapéritonéale de la puromycine (15mg/100g), une excrétion de sel faible, par rapport au témoin (300 ueq) durant les jours cinq (133 ueq), six (107 ueq) et sept (158 ueq), parfois absente (jour quatre) qui augmente par la suite (jour neuf). Ces observations traduisent une rétention de sel au stade précoce de la maladie (jour quatre), suivi d'un phénomène d'échappement en phase tardive (jour neuf à onze).

1.3. Diurèse

Notons que les rats sont néphrotiques dès le jour quatre, ceci d'après les valeurs de protéinurie; par conséquent, le profil de la diurèse de ces derniers révèle une courbe exponentielle semblable à celle de la natriurèse. On observe une diurèse faible par rapport au témoin au jour cinq (1 ml), six (2 ml), sept (2 ml) versus 2 ml et accentuée tardivement (jour neuf: 10ml).

1.4. Perméabilité capillaire

Nos résultats révèlent deux phases distinctes suite à l'injection de la puromycine. **Une phase précoce** (tableau 2) où on observe une augmentation de Bleu d'Evans (BE: ug/g de tissus sec) dans certains organes splanchniques tels que le pancréas (84), le rein (181) des rats néphrotiques par rapport aux témoins représentant respectivement (54 et 109). On remarque que, les valeurs de bleu d'Evans ont doublé dans le rein, cela traduit la présence d'oedèmes dans ce tissu. Les organes tels que: le poumon, le coeur, le foie, le duodénum, le muscle squelettique et la peau ne présentent pas une extravasation d'albumine différente des animaux témoins. **La phase tardive** révèle des anomalies de perméabilité hétérogènes: il s'agit d'une augmentation dans le rein (175 ug/g versus 109) et une diminution dans les organes thoraciques (poumon: 29, coeur: 82) et les organes périphériques (muscle squelettique: 26) et pas de changements dans les autres

organes. Ces observations traduisent une absence d'oedèmes dans les organes thoraciques, particulièrement au niveau du poumon.

Figure 9: Effets de la puromycine sur la protéinurie.

L'excrétion protéique est évaluée dans les urines des rats mâles wistar néphrotiques. Chaque colonne représente la moyenne \pm E.S.M pour deux groupes de rats: 1-rats contrôles 2-rats néphrotiques à 11 jours. (...) représentent $p < 0.01$ par rapport au groupe contrôle avec un t de student non pairé.

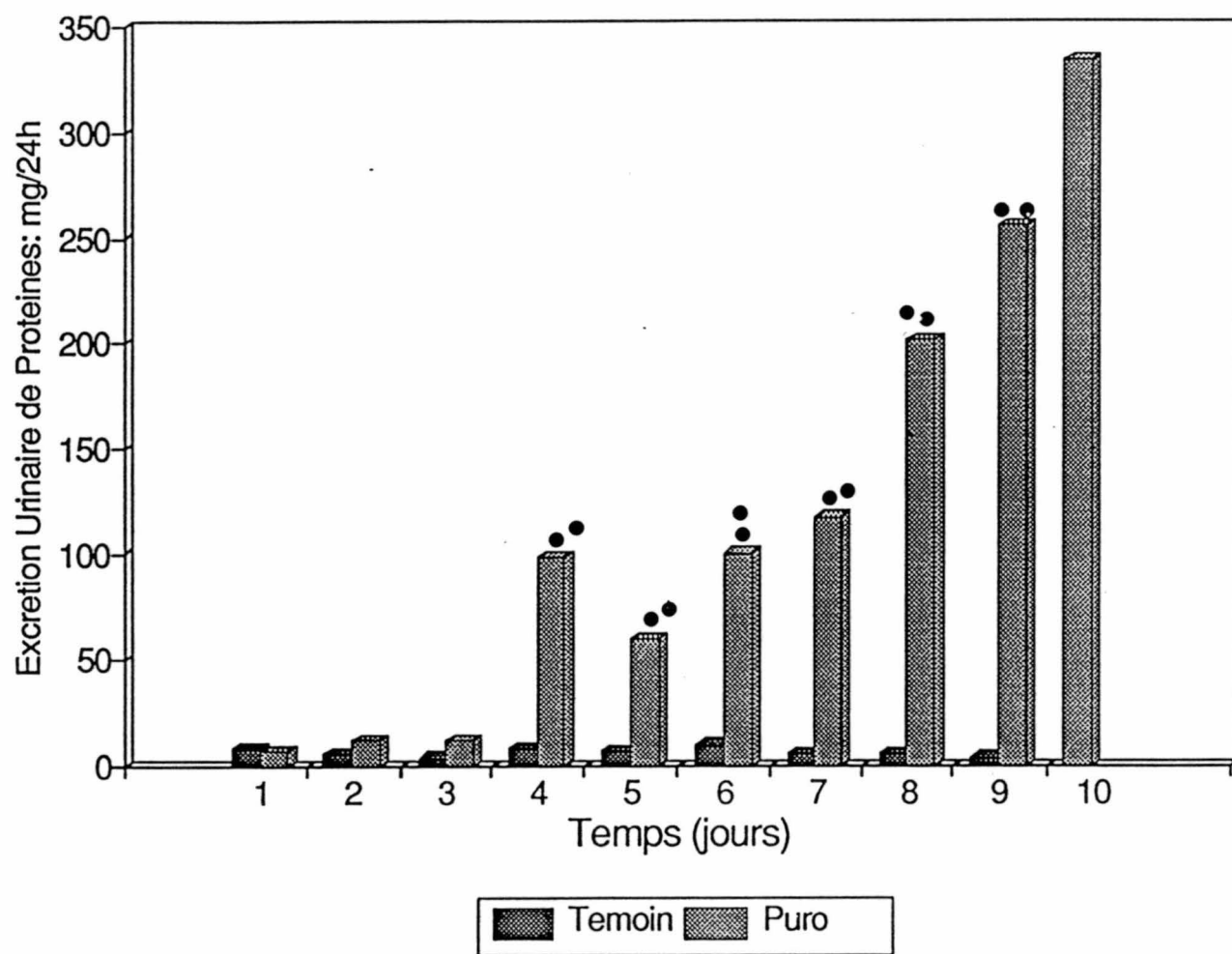


Figure 10: Effets de la puromycine sur la natriurèse. L'excrétion de sel est évaluée dans les urines des rats mâles wistar néphrotiques. Chaque colonne représente la moyenne \pm E.S.M pour deux groupes de rats: 1- rats contrôles 2- rats néphrotiques à 11 jours. * représente $p < 0.05$ par rapport au groupe contrôle, avec un t de student non pairé.

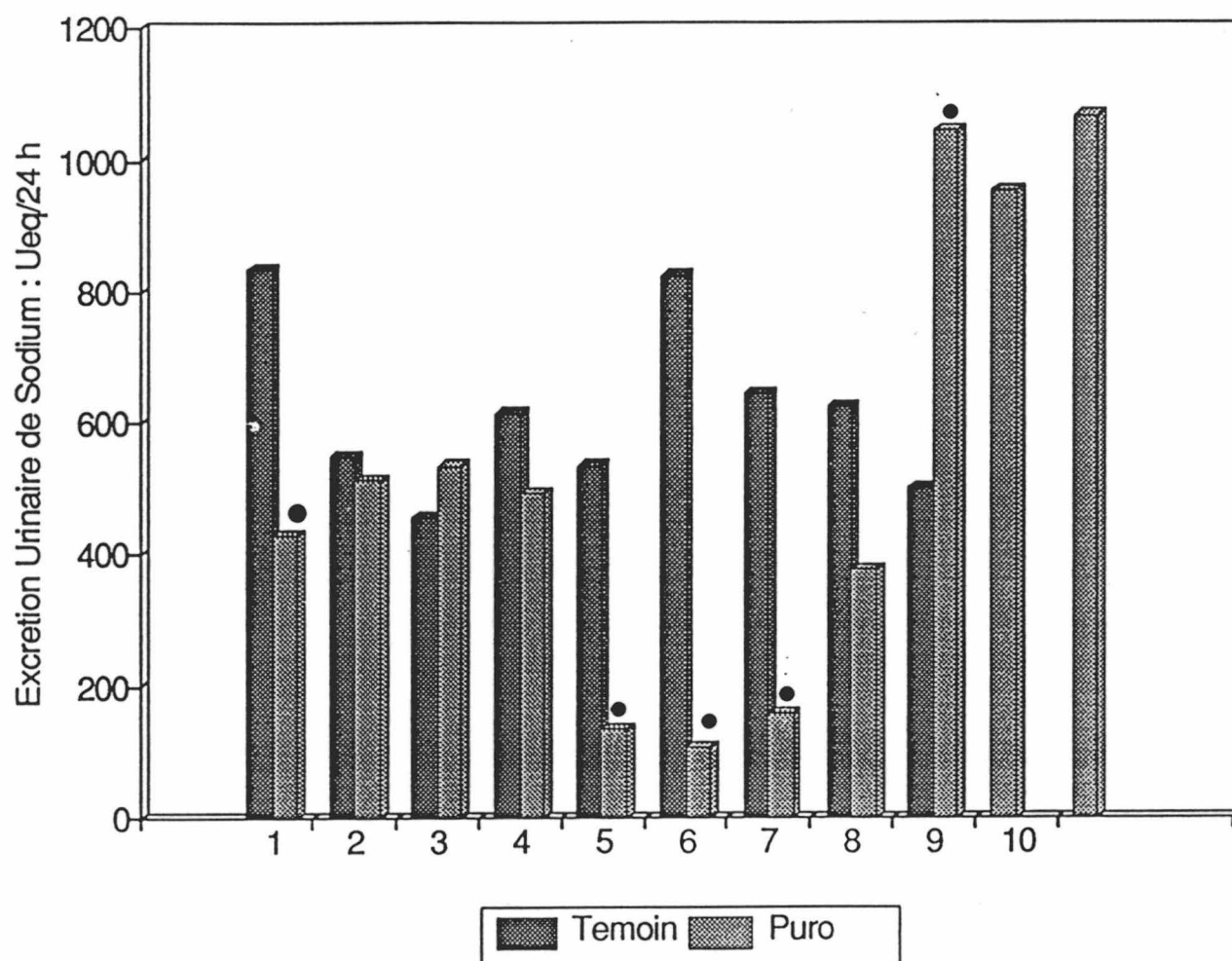


Figure 11: Effets de la puromycine sur la diurèse.

La collecte d'urine a lieu quotidiennement jusqu'à la veille du sacrifice. Chaque colonne représente la moyenne \pm E.S.M pour deux groupes de rats: 1- rats contrôles
2- rats néphrotiques à 11 jours. *
représente $p < 0.05$ par rapport au groupe contrôle, avec un t de student non pairé.

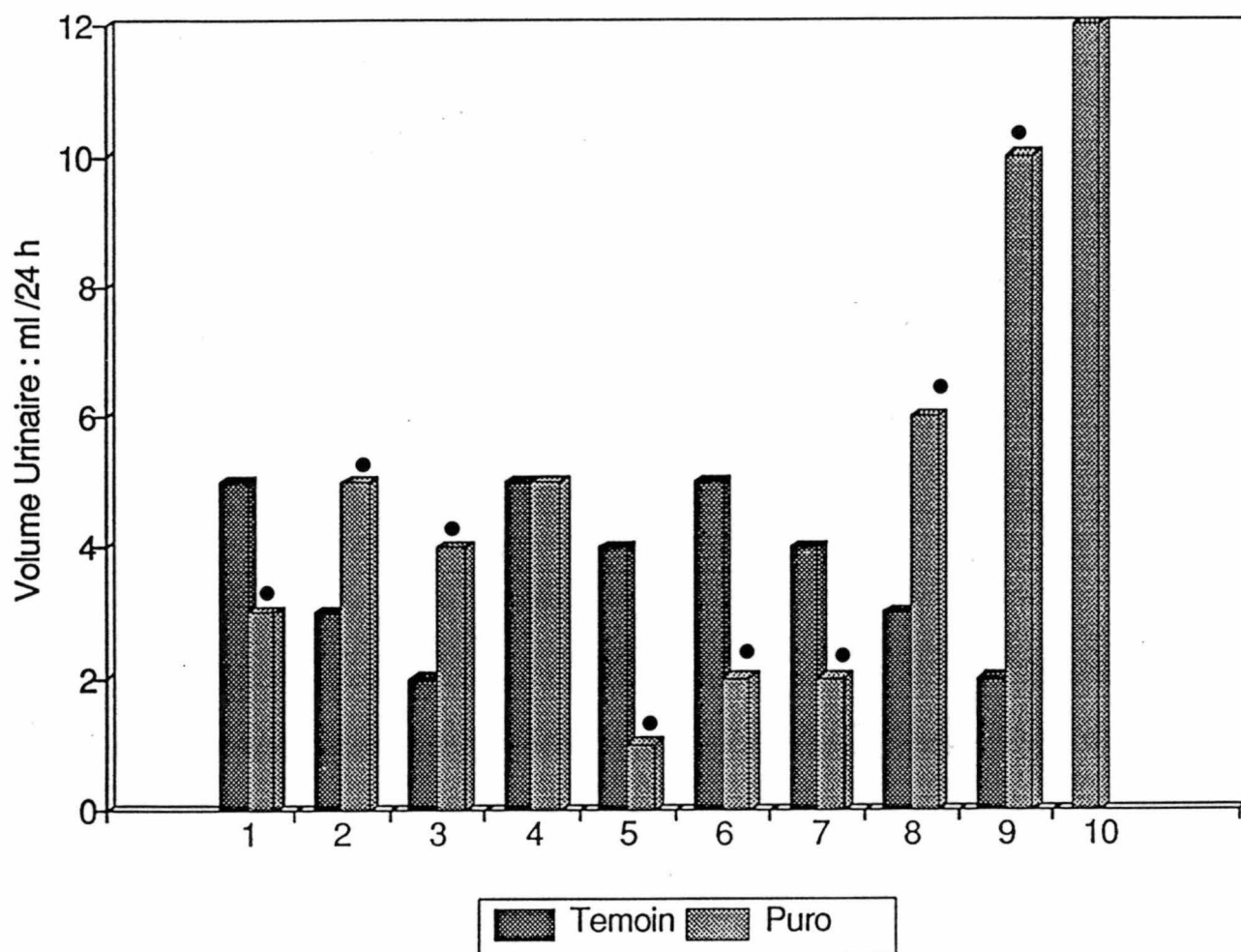


Tableau 2: Effets de la puromycine (15 mg/100g) sur la perméabilité capillaire dans la néphropathie examinée au jour quatre.

TISSUS	Contrôle	Puromycine
POUMON	75.44±8.12	96.72±12.40
COEUR	119.73±5.12	135.94±10.82
FOIE	100.94±9.38	118.41±7.40
PANCREAS	54.64±3.96	84.28±12.60*
REIN	109.10±6.09	181.07±17.91**
DUODENUM	87.49±7.02	79.74±6.30
MUSCLE SQUELET- TIQUE	54.13±8.89	41.72±10.63
PEAU	34.44±5.74	25.36±6.80

Les valeurs moyennes et \pm l'erreur standard de la moyenne sont représentées pour deux groupes de rats: 1-rats contrôles 2-rats néphrotiques à quatre jours. * et ** représentent $p < 0.05$ et $p < 0.01$ par rapport au groupe contrôle.

Puro = puromycine; Furo = furosémide.

Figure 12: Néphropathie à la puromycine et perméabilité capillaire. En ordonnée, l'extravasation du Bleu d'Evans dans les organes thoraciques (Bronche interne = B.I.; Poumon = P; Coeur = C) chez des rats mâles wistar néphrotiques, mesurée au jour onze après l'injection de PAN. Chaque colonne représente la moyenne + ou - une erreur standard à la moyenne (E.S.M.). * et ** représentent respectivement $p < 0.05$ et $p < 0.01$, par rapport au groupe contrôle. Les valeurs moyennes pour $n=6$ sont représentées.

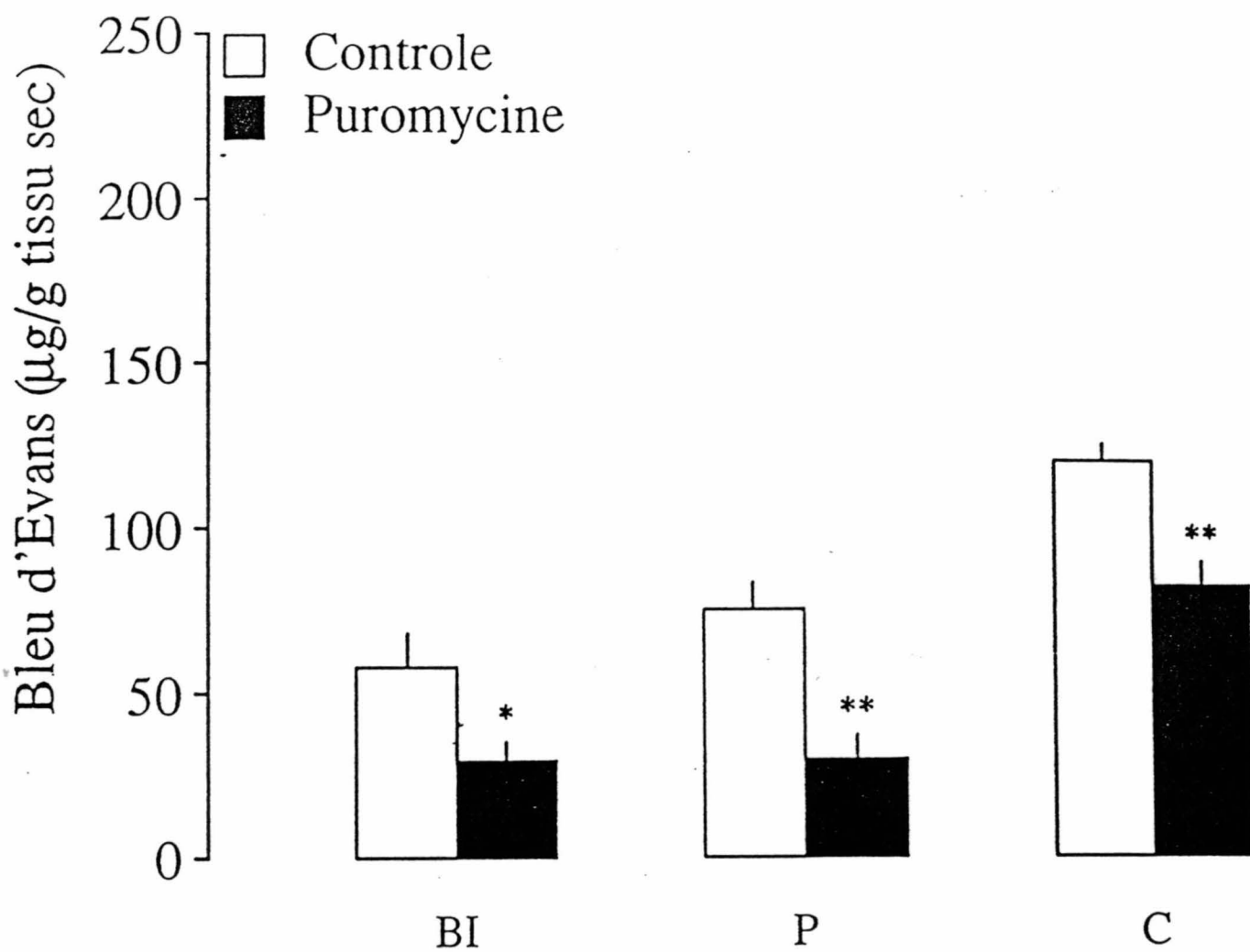


Figure 13: Néphropathie à la puromycine et perméabilité capillaire. En ordonnée, l'extravasation du Bleu d'Evans dans les organes splanchniques (Foie = F; Pancréas = P; Reins = R; Duodénum = D) chez des rats mâles wistar néphrotiques, mesurée au jour onze après l'injection de PAN, avec des significations statistiques comme à la figure 12.

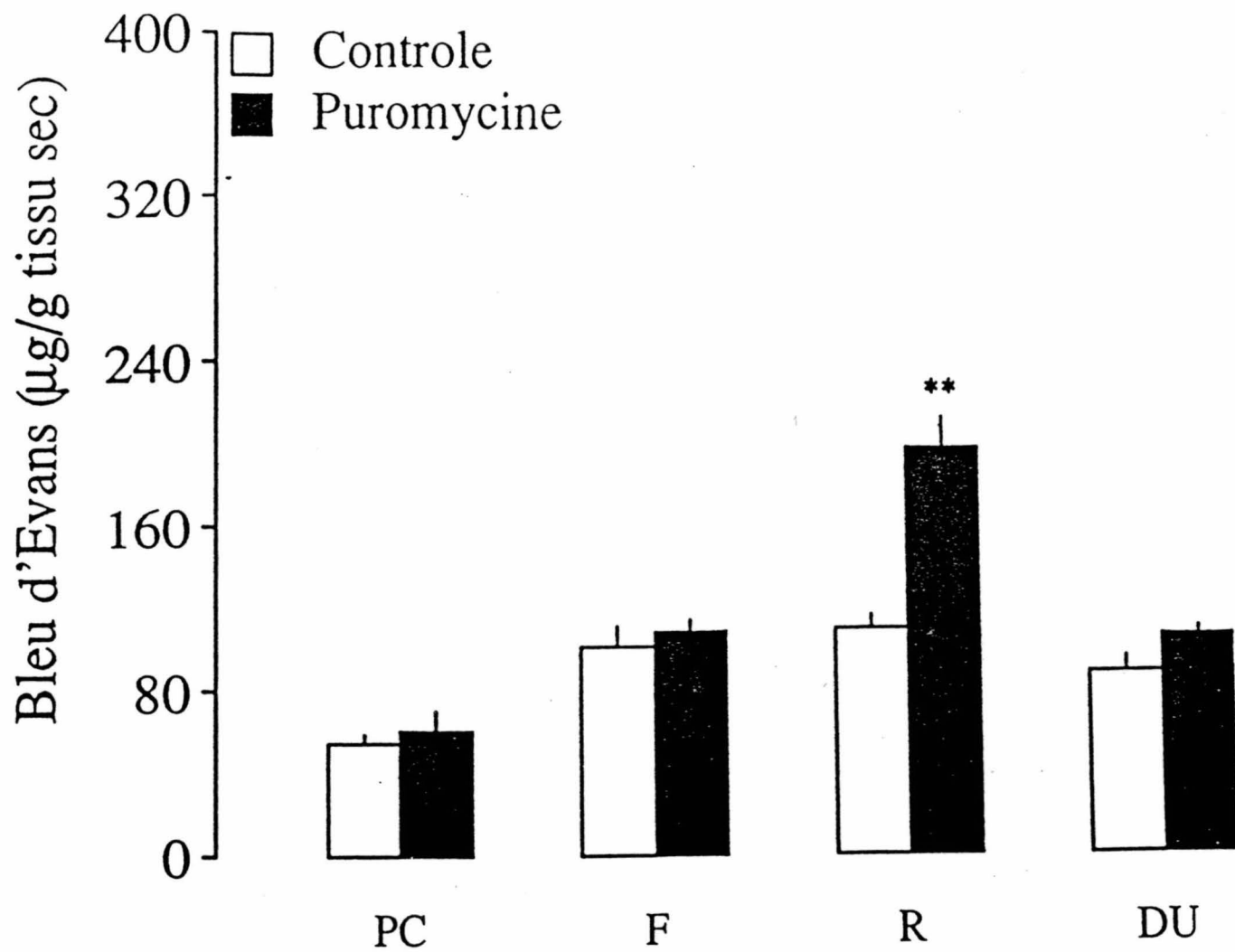
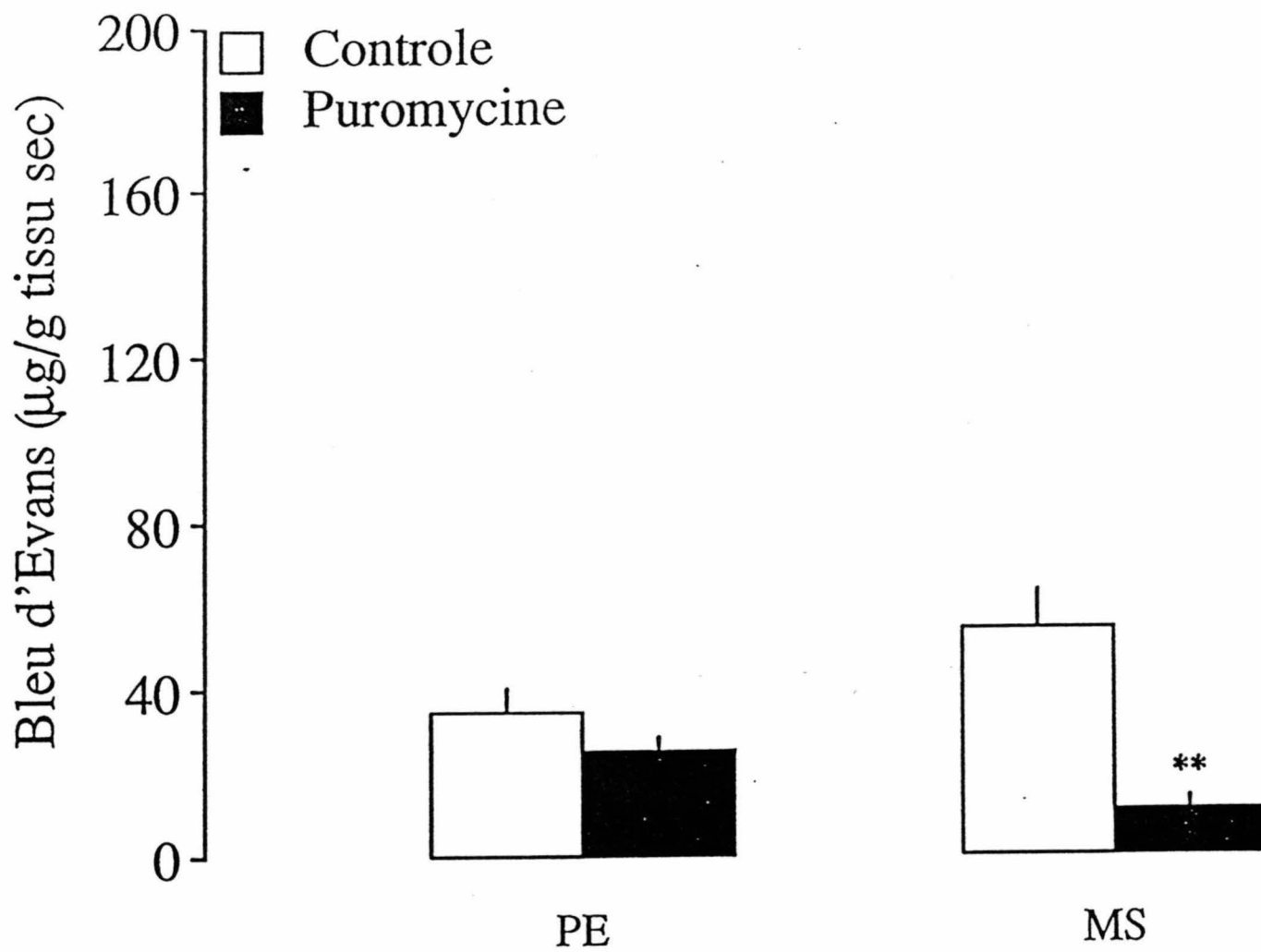


Figure 14: Néphropathie à la puromycine et perméabilité capillaire. En ordonnée, l'extravasation du Bleu d'Evans dans les organes périphériques (Peau = P; Muscle squelettique = M S) chez des rats mâles wistar néphrotiques, mesurée au jour onze après l'injection de PAN. Chaque colonne représente la moyenne + ou - une erreur standard à la moyenne (E.S.M). (*) et (*) représentent $P < 0.05$ et $P < 0.01$ respectivement, par rapport au groupe contrôle. Les valeurs moyennes pour $n = 6$ sont représentées.



2. EFFETS DU FUROSEMIDE SUR LA NATRIURESE, LA DIURESE, LA PERMEABILITE CAPILLAIRE ET LA PROTEINURIE.

2.1. Natriurèse et Diurèse

Les rats normaux (voir fig. 15 et 16) ayant reçu quotidiennement du furosémide ont présenté une natriurèse et une diurèse significative, avec un maximum représenté respectivement par 1600 ueq et 12 ml. Ces observations confirment le rôle attribué au furosémide (diurétique puissant de l'anse ascendante large de Henle).

Chez les rats néphrotiques, nous avons observé au stade précoce de la maladie une rétention hydro-sodique suivie tardivement de la "natriurèse d'échappement". Au regard de ces observations, le furosémide augmente la natriurèse et la diurèse des rats malades durant le traitement, sauf au jour quatre où il n'existe pas de changement significatif par rapport au témoin (voir fig. 17 et 18). Cela traduit la présence de deux mécanismes pathophysiologiques différents en fonction du temps: une résistance de l'action diurétique en phase précoce et, tardivement, une accentuation de l'effet de ce dernier. En effet, le jour neuf présente une diurèse de 20 ml versus 2 ml; la natriurèse (1600 ueq versus 400 ueq).

2.2. Perméabilité capillaire

On observe deux phases chez les rats néphrotiques ayant reçu du furosémide. La phase précoce qui présente une correction des anomalies de perméabilité rénale et pancréatique induite par la puromycine, représentée respectivement par 130 et 65 ug/g. En phase tardive, l'action diurétique est absente dans le rein (142 versus 109 ug/g) mais présente dans le muscle squelettique (58 versus 54 ug/g) : organe périphérique contenant environ 42% d'eau cellulaire.

2.3. Protéinurie

La protéinurie massive des rats néphrotiques tend à s'aggraver (fig. 22). En effet, on remarque que, au jour quatre, le furosémide induit une augmentation très significative qui s'accentue par la suite.

Figure 15: Effets du furosémide sur la natriurèse. L'excrétion de sel est évaluée dans les urines des rats mâles wistar. Chaque colonne représente la moyenne \pm E.S.M pour deux groupes de rats : 1- rats contrôles. 2-rats normaux à 11 jours ayant reçu le furosémide. * représente $p < 0.05$ par rapport au groupe contrôle, avec un t de student non pairé.

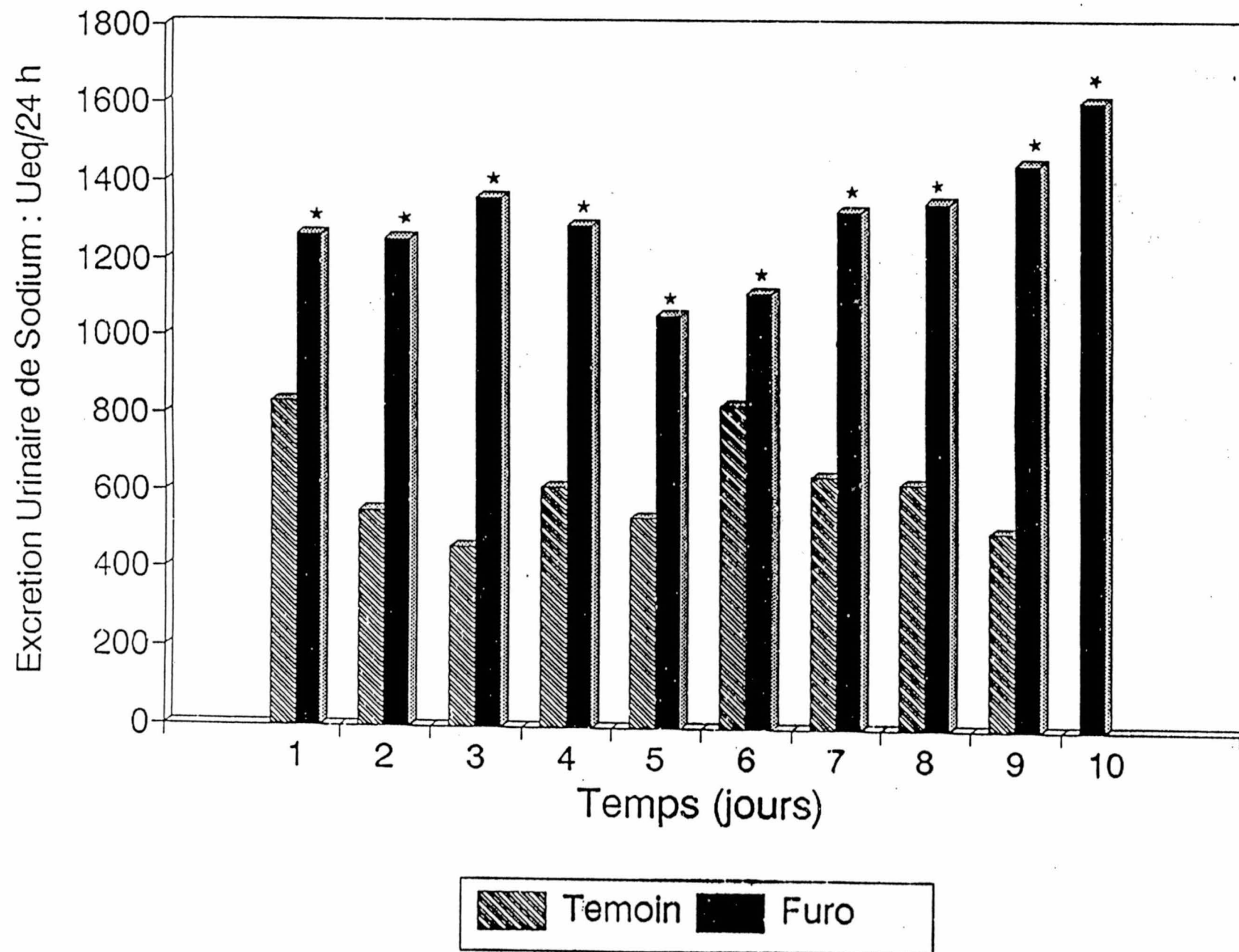


Figure 16: Effets du furosémide sur la diurèse. Chaque colonne représente la moyenne \pm E.S.M pour deux groupes de rats : 1- rats contrôles 2-rats normaux ayant reçu du furosémide durant onze jours. * représente $p < 0.05$ par rapport au groupe contrôle avec un t de student non pairé.

Volume Urinaire : ml /24 h

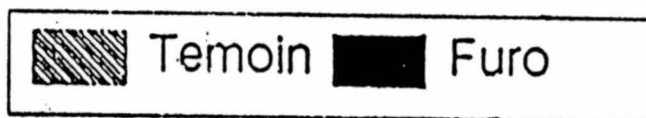
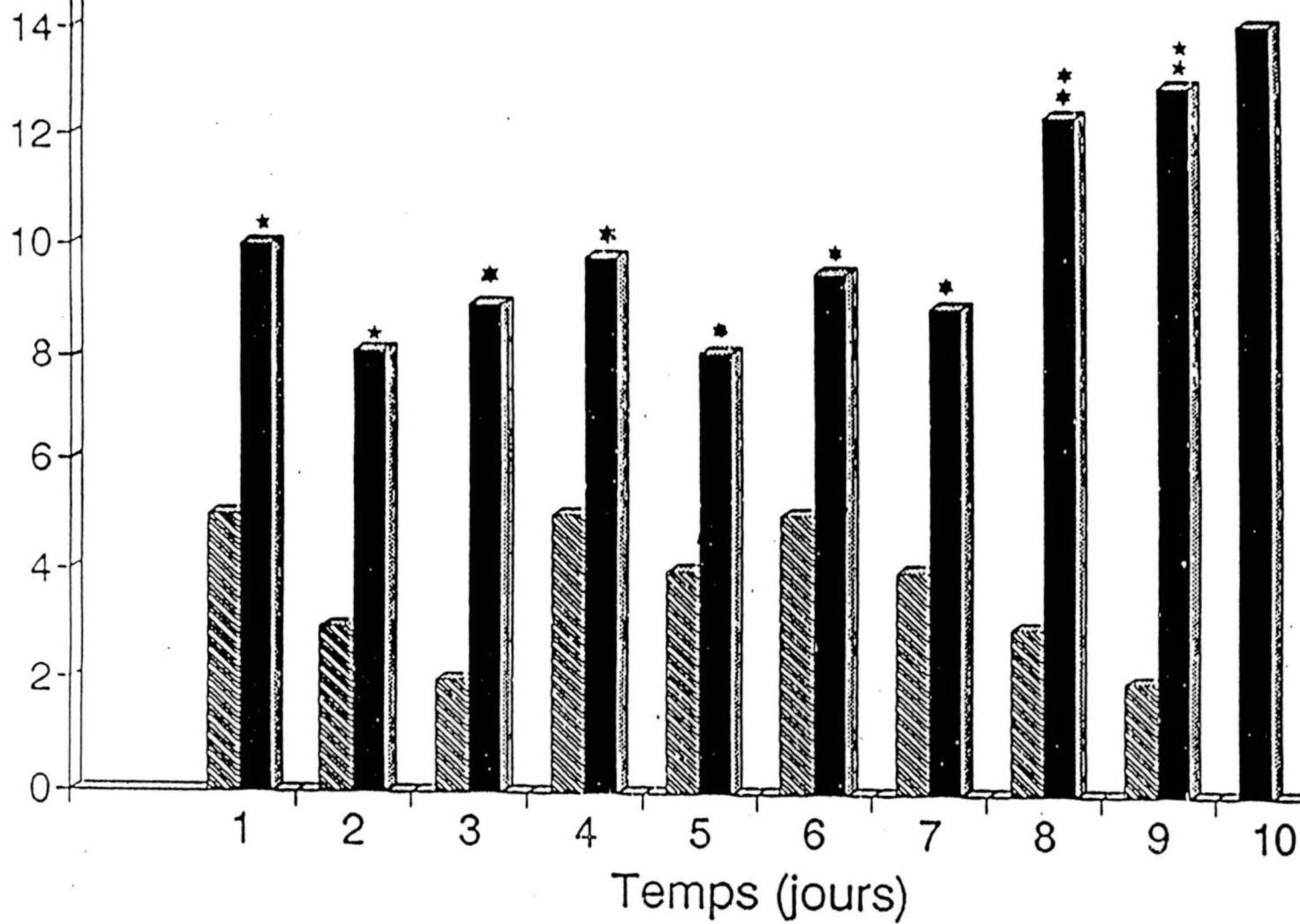


Figure 17: Néphropathie à la puromycine et les effets du furosémide sur la natriurèse. L'excrétion des sel est évaluée dans les urines des rats mâles wistar néphrotiques. Chaque colonne représente la moyenne \pm E.S.M pour trois groupes de rats 1-rats contrôles 2- rats néphrotiques à onze jours 3- rats néphrotiques à 11 jours ayant reçu le furosémide. * et ** représentent $p < 0.05$ et $p < 0.01$ respectivement par rapport au groupe contrôle avec un t de student non pairé.

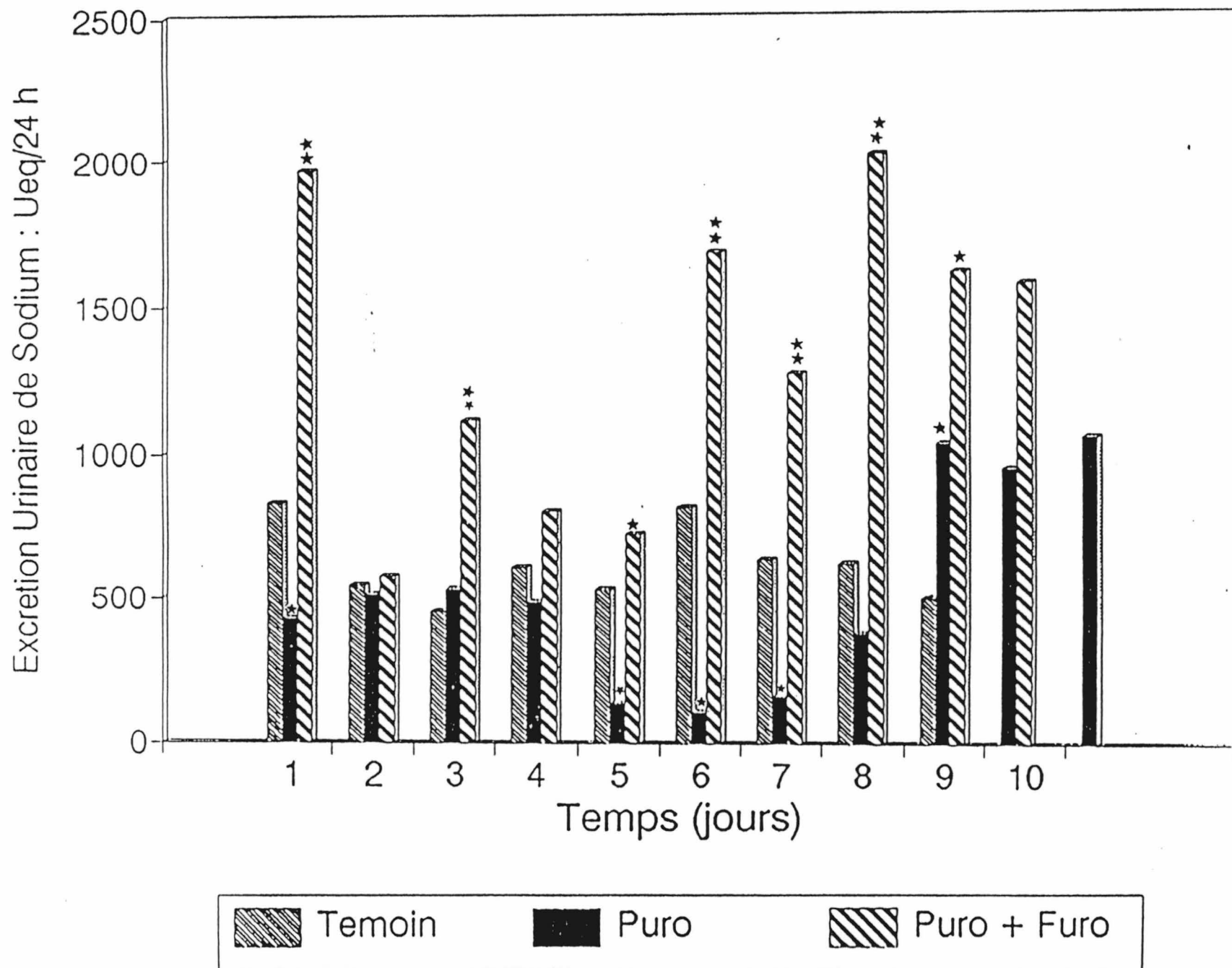
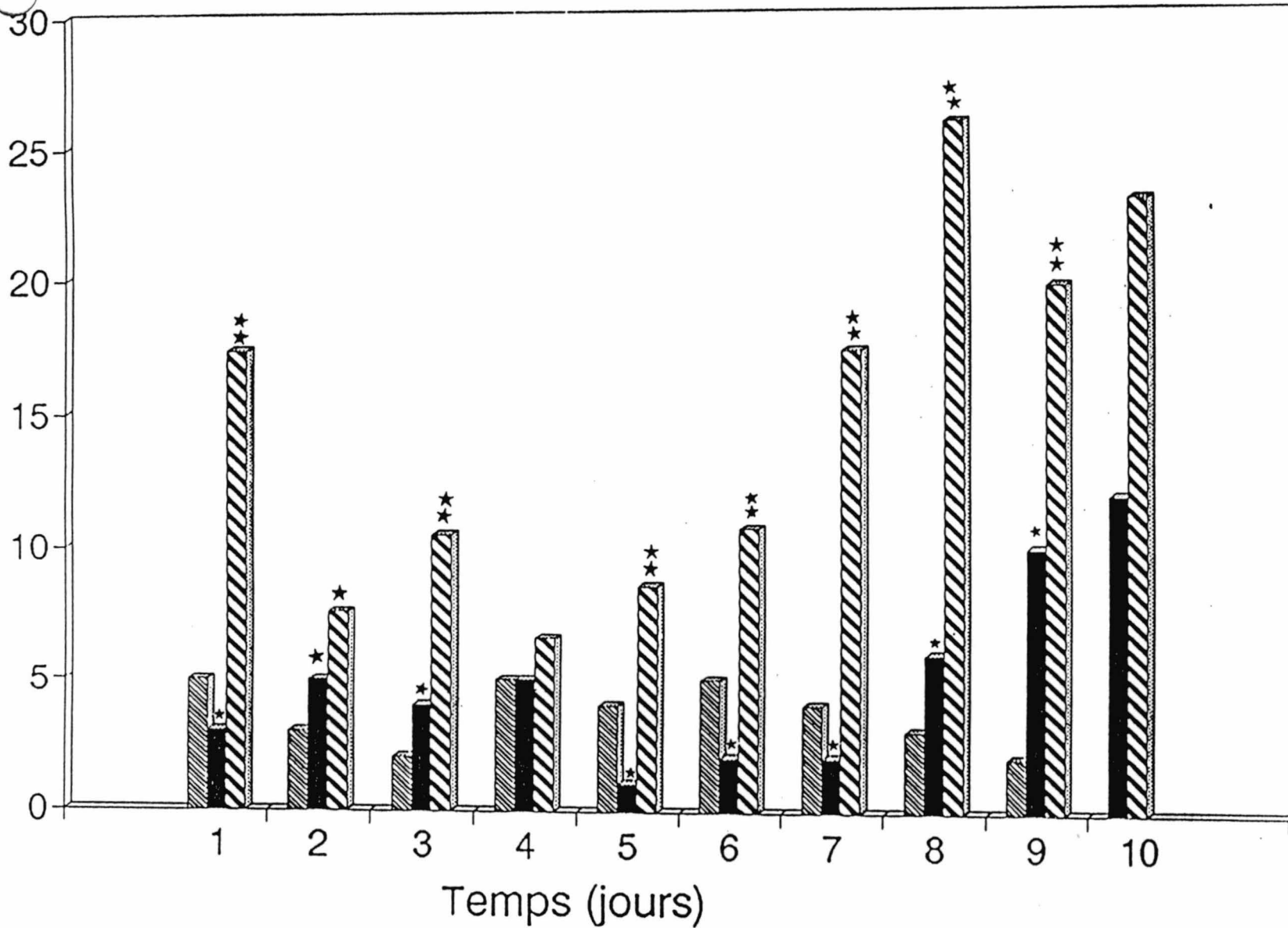


Figure 18: Néphropathie à la puromycine et les effets du furosémide sur la diurèse. La collecte d'urine a lieu quotidiennement jusqu'à la veille du sacrifice. Chaque colonne représente la moyenne \pm E.S.M pour trois groupes de rats: 1- rats contrôles 2- rats néphrotiques à 11 jours 3-rats néphrotiques à onze jours ayant reçu le furosémide. * et ** représentent $p < 0.05$ et $p < 0.01$ par rapport au groupe contrôle, avec un t de student non pairé.

Volume Urinaire : ml /24 h



Temoin Puro Puro + Furo

Tableau 3: Effets du furosémide (1 mg/Kg) sur la perméabilité capillaire dans la néphropathie à la puromycine examinée quatre jours après l'injection intrapéritonéale.

TISSUS	Contrôle	Puromycine	Puro+Furo
POUMON	75.44±8.12	96.72±12.40	59.79±4.52
COEUR	119.73±5.12	135.94±10.82	104.26±5.97
FOIE	100.94±9.38	118.41±7.40	82.72±9.34
PANCREAS	54.64±3.96	84.28±12.60*	65.89±4.43
REINS	109.10±6.09	181.07±17.91**	130.79±6.14
DUODENUM	87.49±7.02	79.74±6.30	70.42±4.08
MUSCLE SQUELETTIQUE	54.13±8.89	41.72±10.63	46.64±5.38
PEAU	34.44±5.74	25.36±6.80	37.20±7.23

Les valeurs moyennes et \pm l'erreur standard de la moyenne sont représentées pour trois groupes de rats: 1-rats contrôles 2-rats néphrotiques à 4 jours 3-rats néphrotiques à 4 jours ayant reçu le furosémide. L'analyse des données statistiques sont identiques à celles de la figure 12.

Puro = puromycine.

Furo = furosémide.

Figure 19: Néphropathie à la puromycine et l'effet du traitement (furosémide) sur la perméabilité capillaire. En ordonnée, l'extravasation du Bleu d'Evans dans les organes thoraciques (P: Poumon, C: Coeur) chez des rats mâles wistar néphrotiques, mesurée onze jours après le traitement avec les significations statistiques comme à la figure 12.

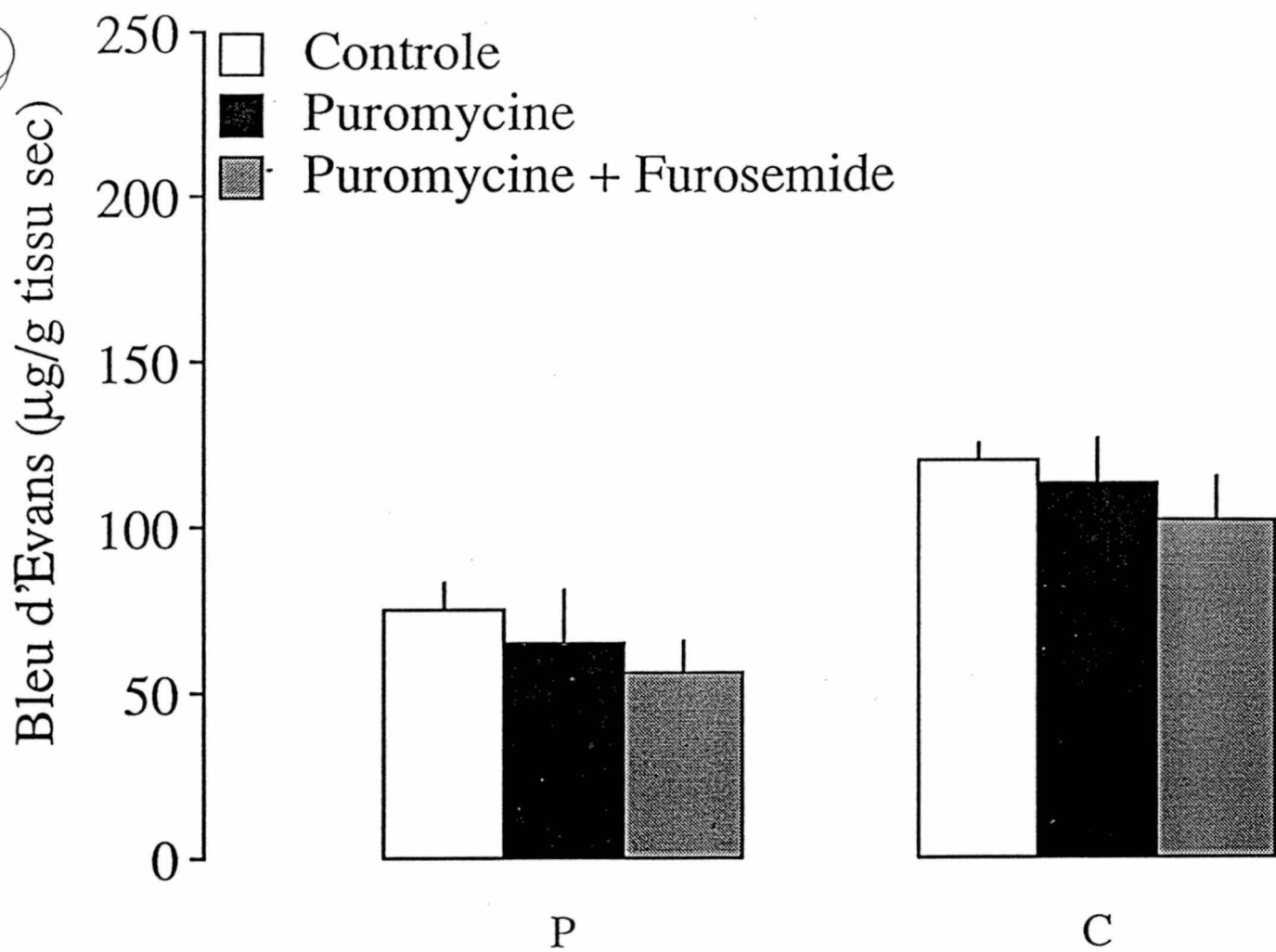


Figure 20: Néphropathie à la puromycine et l'effet du traitement (furosémide) sur la perméabilité capillaire. En ordonnée, l'extravasation du Bleu d'Evans dans les organes splanchniques (F: Foie, PC: Pancréas, R: Rein, DU: Duodénum) chez des rats mâles wistar néphrotiques, mesurée onze jours après le traitement avec les significations statistiques comme à la figure 12.

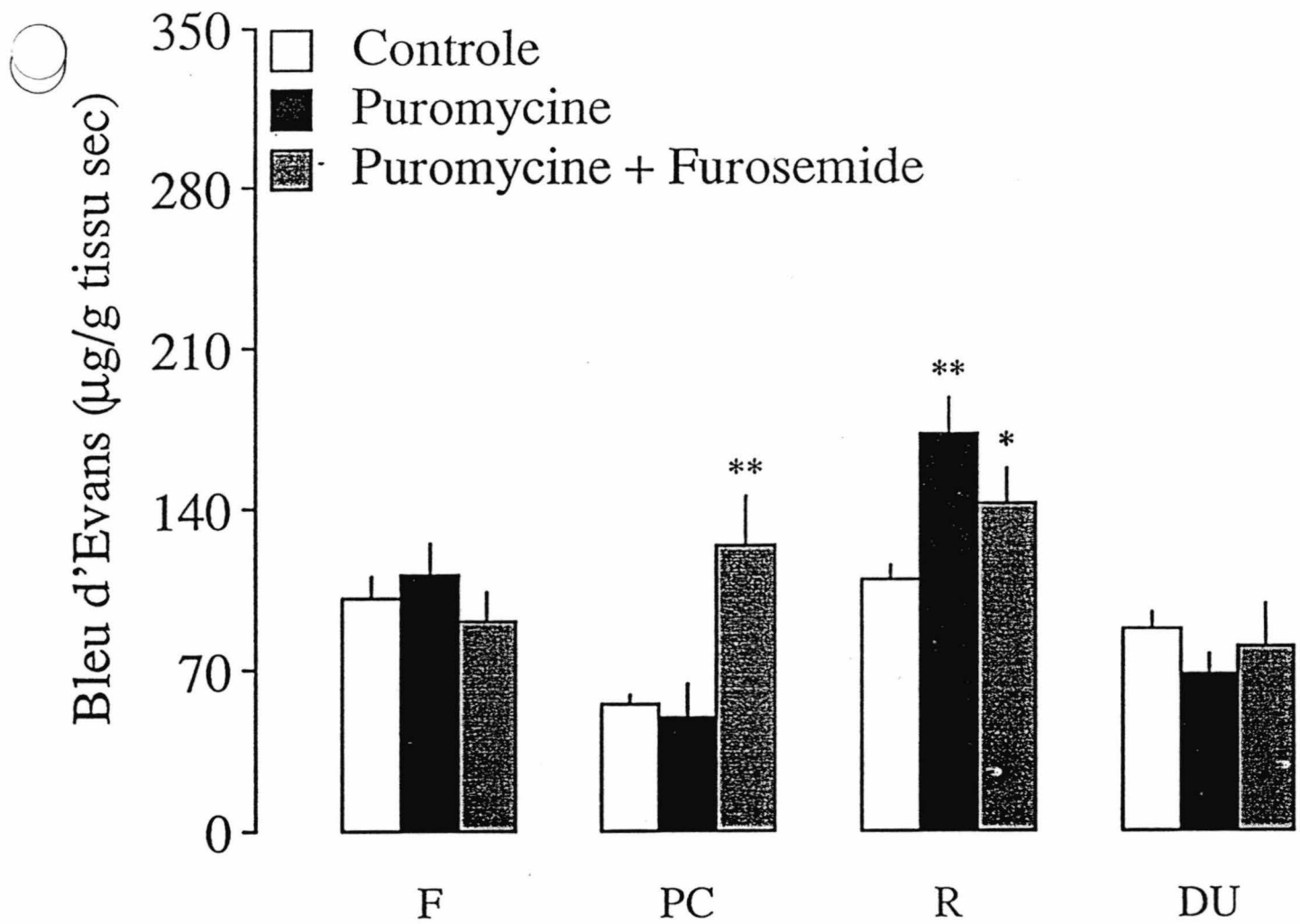


Figure 21: Néphropathie à la puromycine et l'effet du traitement (furosémide) sur la perméabilité capillaire. En ordonnée, l'extravasation du Bleu d'Evans dans les organes périphériques (PE: Peau, MS: Muscle) chez des rats mâles wistar néphrotiques, mesurée onze jours après le traitement avec les significations statistiques comme à la figure 12.

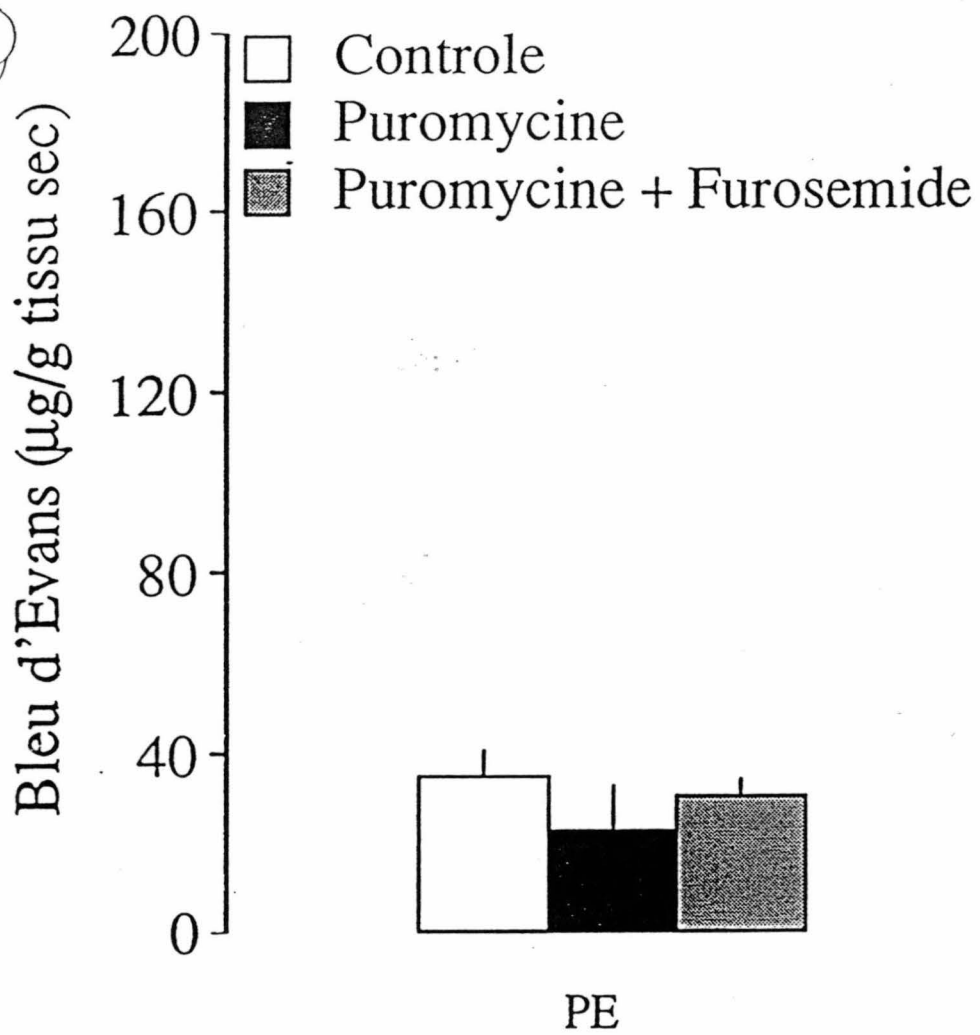


Figure 22: Néphropathie à la puromycine et les effets du furosémide sur la protéinurie. L'excrétion des protéines est évaluée dans les urines des rats mâles wistar néphrotiques. Chaque colonne représente la moyenne \pm E.S.M pour trois groupes de rats 1-rats contrôles 2- rats néphrotiques 3- rats néphrotiques à 11 jours ayant reçu le furosémide. * et ** représentent $p < 0.05$ et $p < 0.01$ respectivement par rapport au groupe contrôle avec un t de student non pairé.

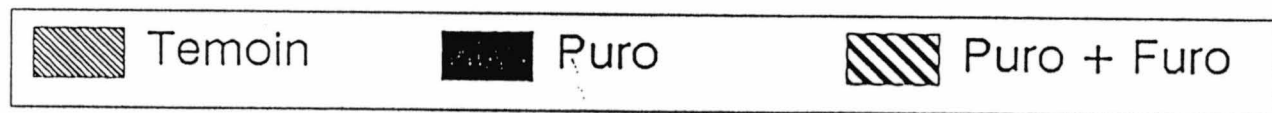
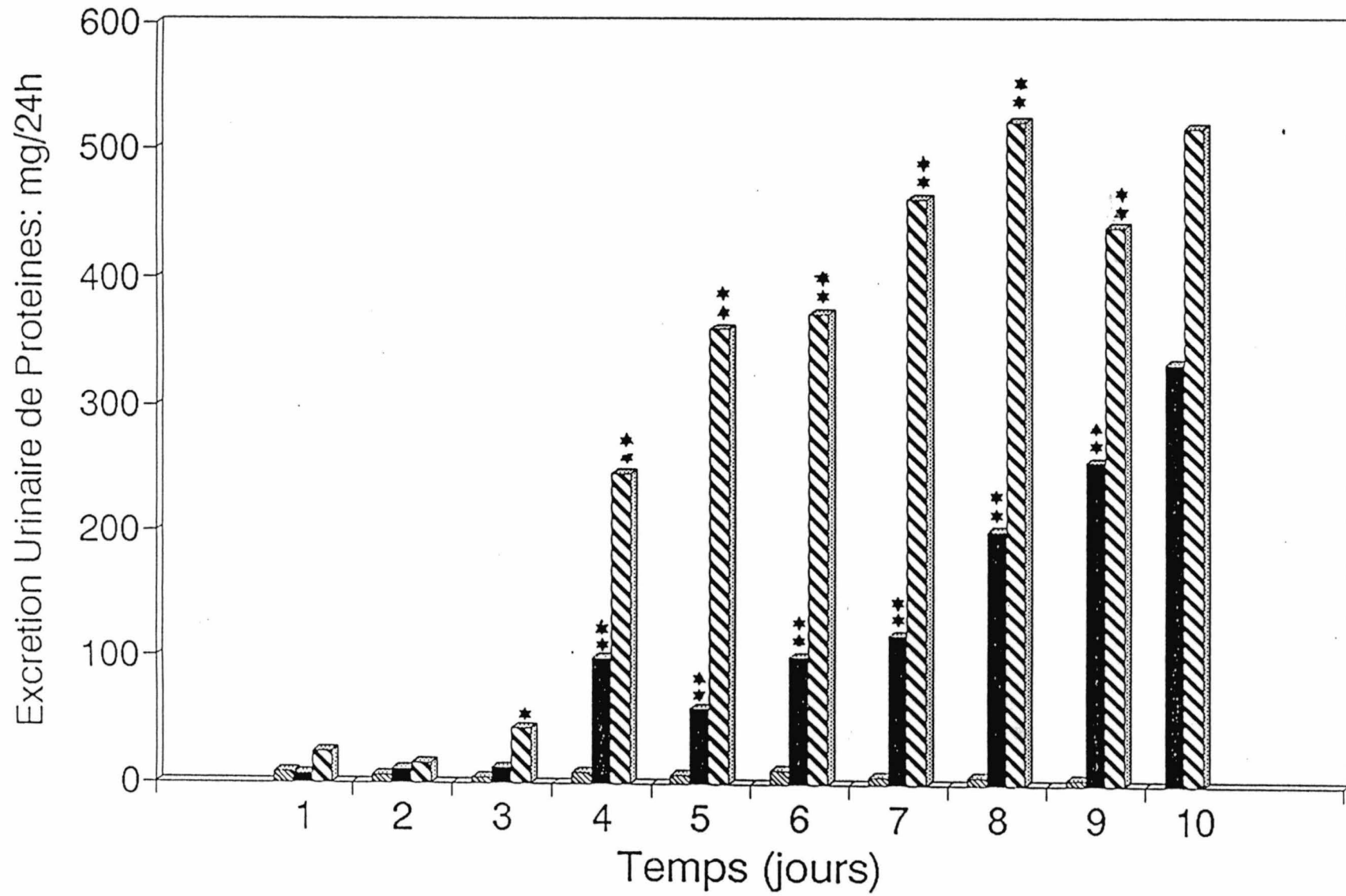


Tableau 4: Effets du furosémide (1 mg/Kg) sur le rapport poids sec/poids humide dans la néphropathie à la puromycine examinée quatre jours après l'injection intrapéritonéale.

TISSUS	Contrôle	Puromycin e	Puro+Furo
POUMON	0.20±0.09	0.21±0.01	0.16±0.07*
COEUR	0.25±0.04	0.25±0.00	0.25±0.02
FOIE	0.34±0.04	0.32±0.01	0.32±0.03
PANCREAS	0.28±0.06	0.25±0.03	0.23±0.02
REIN	0.24±0.01	0.23±0.00	0.23±0.00
DUODENUM	0.25±0.04	0.25±0.00	0.26±0.00
MUSCLE SQUELETTIQUE	0.26±0.04	0.24±0.01	0.24±0.00
PEAU	0.34±0.04	0.33±0.02	0.31±0.01

Les valeurs moyennes et \pm l'erreur standard à la moyenne sont représentées pour trois groupes de rats 1-les rats contrôles 2-les rats traités à la puromycine 3-les rats traités à la puromycine et au furosémide ; avec les valeurs statistiques comme à la figure 12.

Figure 23: Néphropathie à la puromycine et l'effet du traitement (furosémide) sur le rapport poids sec/poids humide. En ordonnée, le ratio poids sec/poids humide dans les organes périphériques (MS: Muscle, PE:Peau) des rats mâles wistar néphrotiques , mesuré onze jours après le traitement pour les tissus humides et 24 heures après pour leur poids sec avec les significations statistiques comme à la figure 12.

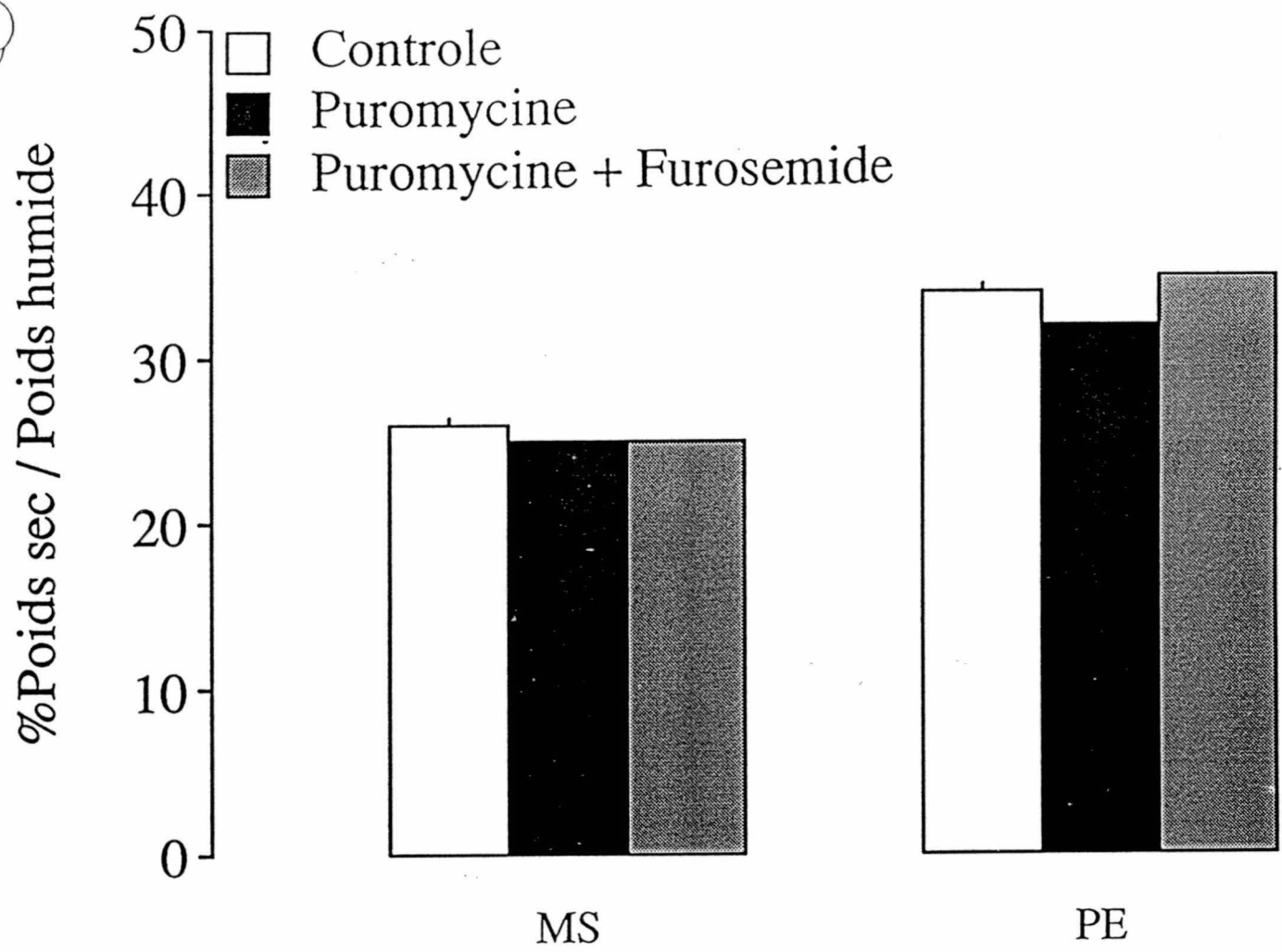


Figure 24: Néphropathie à la puromycine et l'effet du traitement (furosémide) sur le rapport poids sec/poids humide. En ordonnée, le ratio poids sec/poids humide dans les organes thoraciques (P: Poumon, C: Coeur) des rats mâles wistar néphrotiques mesurée onze jours après le traitement comme à la figure 23 et les significations statistiques semblables à la figure 12.

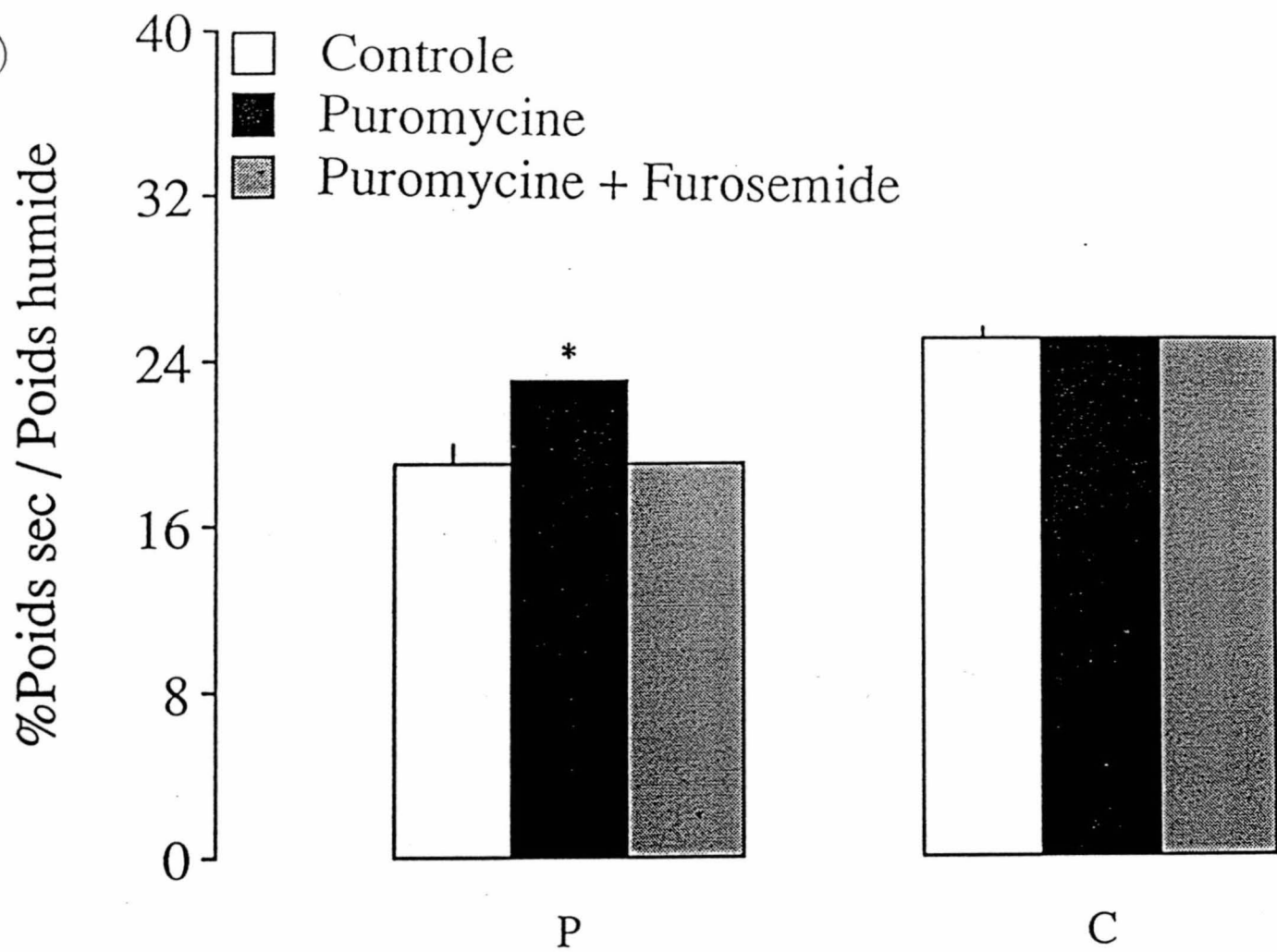


Figure 25: Néphropathie à la puromycine et l'effet du traitement (furosémide) sur le rapport poids sec/poids humide. En ordonnée, le ratio poids sec/poids humide dans les organes splanchniques (PC: Pancréas, F: Foie, R: Rein, DU: Duodénum) des rats mâles wistar néphrotiques , mesuré onze jours après le traitement comme à la figure 23 et les significations statistiques semblables à la figure 12.

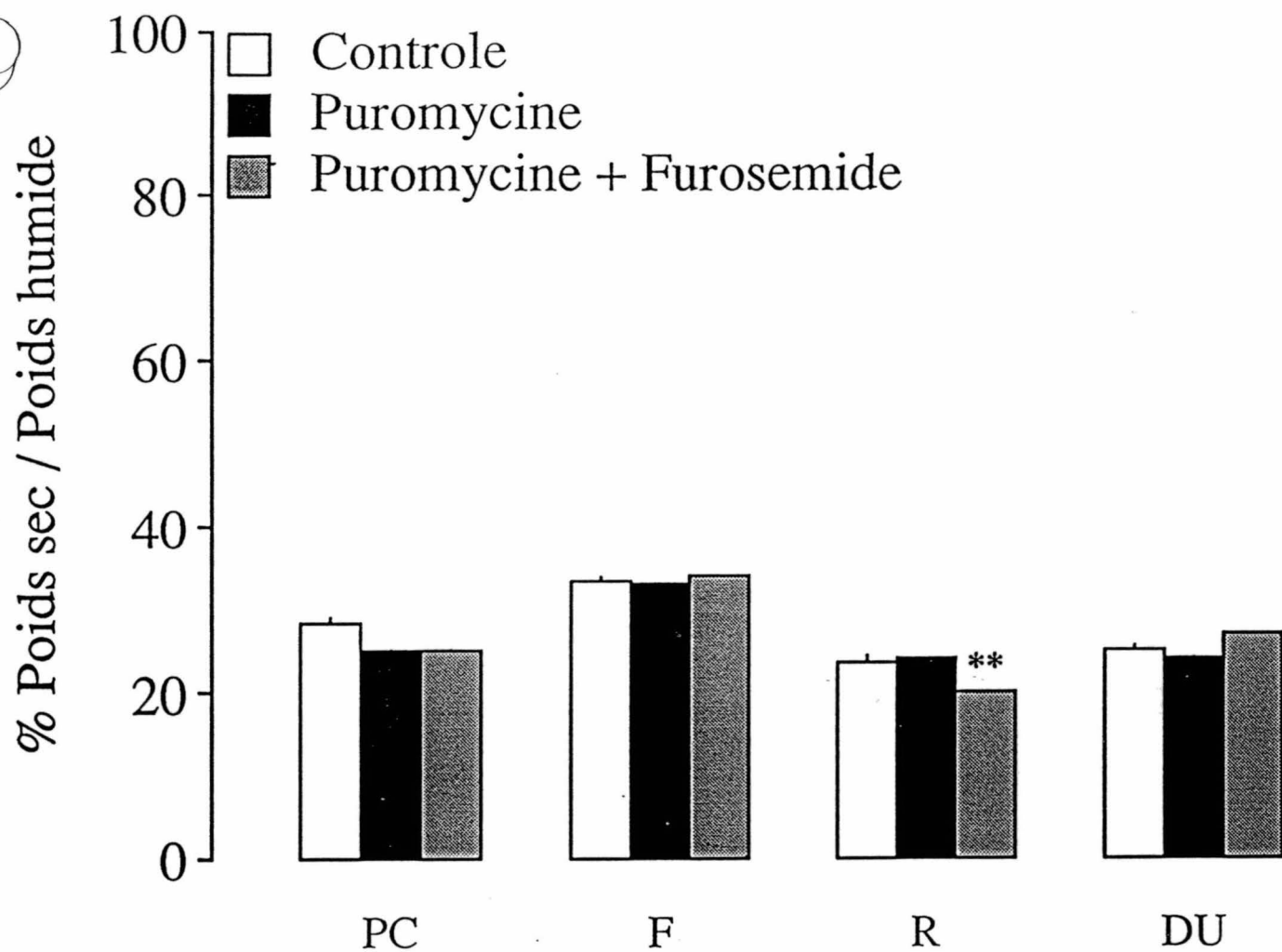
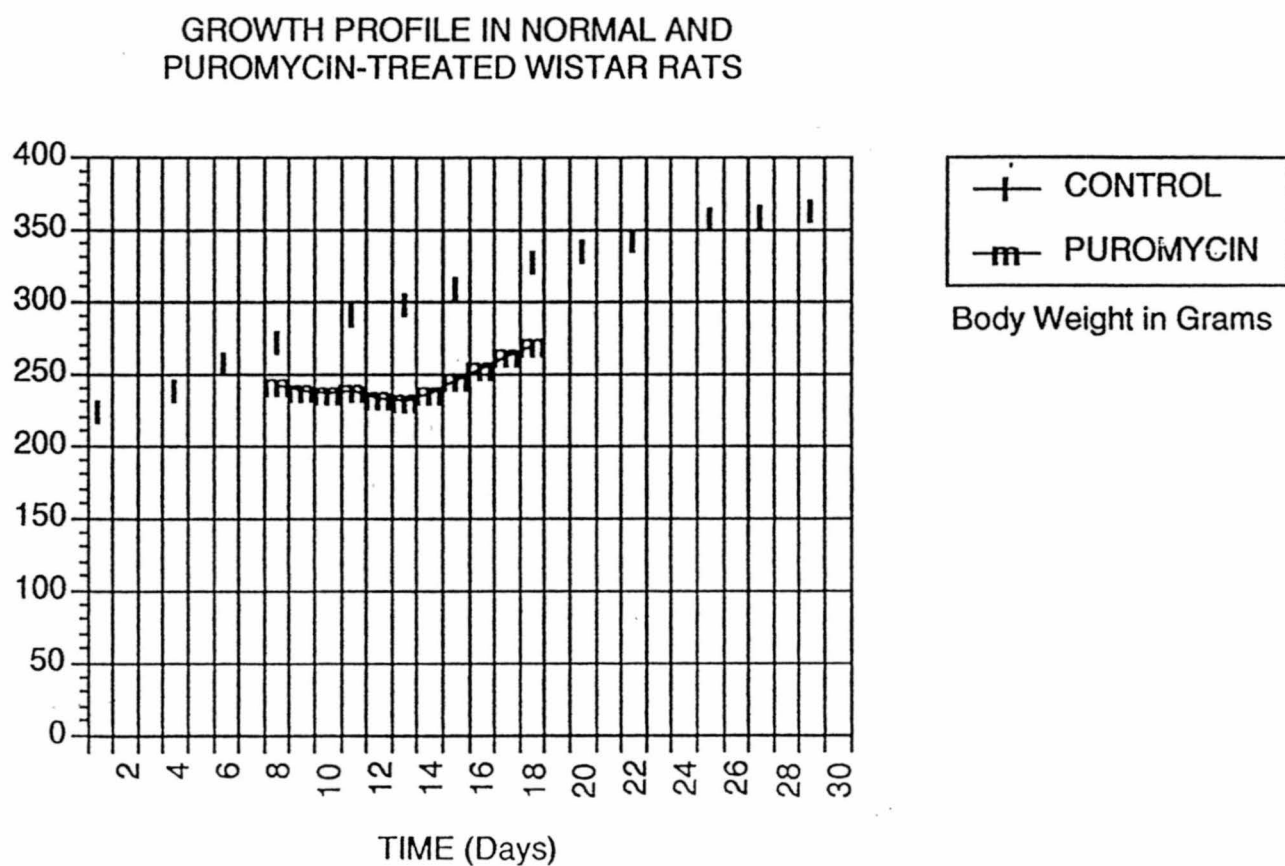


Figure 26: Profil du poids corporel des rats néphrotiques. La moyenne est représentée pour deux groupes de rats: 1- rats contrôles 2- rats néphrotiques durant onze jours.



3. LES PARAMETRES HEMODYNAMIQUES RENaux

Nous observons que, cinq groupes de rats ont été traités différemment en fonction du temps. Au jour quatre, les rats ayant reçu la puromycine présentent une réduction de la filtration glomérulaire (GFR: $1.65\text{ml/min} \pm 0.17$) versus ($2.10\text{ml/min} \pm 0.06$) chez les rats témoins, alors que les valeurs des pressions artérielles et hématokrites, respectivement 125mmHg et 42 versus 128mmHg et 44 chez les rats témoins, demeurent constantes. A ce même stade, l'administration du furosémide chez les rats néphrotiques révèle une GFR basse ($0.89\text{ml/min} \pm 0.22$) avec des valeurs de pression artérielle (121mmHg) et hématokrite (42) maintenues constantes. Au stade avancé de la maladie, nous pouvons remarquer une diminution très significative de la filtration glomérulaire chez les rats rendus néphrotiques par la puromycine (1.37ml/min), et les rats néphrotiques traités au furosémide (1.33ml/min).

Tableau 5: Paramètres hémodynamiques rénaux

TEMPS	Traitements	Hématocrite	Pression artérielle	Clairance d'inuline
4 Jours	puromycine	42 \pm 1.6	125 \pm 3.5	1.65 \pm 0.17*
4 jours	puromycine + furosémide	42 \pm 1	121 \pm 3.5	0.89 \pm 0.22**
11jours	puromycine	41 \pm 2	132 \pm 2	1.37 \pm 0.27**
11jours	puromycine + furosémide	41 \pm 1.4	125 \pm 1.5	1.33 \pm 0.40**
11jours	furosémide	46 \pm 1.5	116 \pm 3	2.35 \pm 0.24

Les valeurs moyennes et \pm l'erreur standard de la moyenne sont représentées pour cinq groupes de rats ayant reçu différents traitements. L'analyse des données statistiques sont identiques à celles de la figure 12.

Les pressions artérielles sont en mmHg.

Clairance d'inuline en ml/mn.

DISCUSSION

Les résultats rapportés dans la présente étude révèlent quatre points pertinents. Premièrement, le profil de la natriurèse et diurèse varie en fonction du temps. Aux jours quatre et onze respectivement une phase de rétention suivie d'une hyperexcrétion sont observées. Deuxièmement, les anomalies de perméabilité capillaire extra-rénale sont documentées pour la première fois dans le pancréas et le rein, suivie dans la phase tardive, d'une augmentation dans le rein et d'une diminution dans le poumon, le coeur et, de manière importante dans le muscle squelettique. Troisièmement, la réponse des animaux au furosémide varie également en fonction du temps. On assiste à deux comportements différents: une résistance relative au diurétique est démontrée au stade précoce, alors qu'une natriurèse et une diurèse prononcées surviennent en phase tardive (jours neuf à onze). Ces phénomènes surviennent en absence de modifications de la perméabilité rénale à l'albumine, mais plutôt coïncide avec la normalisation de la perméabilité dans le muscle squelettique. Enfin, le furosémide accentue considérablement la protéinurie des animaux néphrotiques.

L'induction d'une néphropathie suite à l'injection de puromycine nous a permis de faire les mêmes observations que VOGHT et FAVRE (1991), en ce qui concerne la protéinurie qui commence au jour quatre, suivie d'une rétention d'eau et de sodium. Plus tardivement, une phase de diurèse et natriurèse exagérées nous a conduit à examiner les changements de perméabilité capillaire au

BE à ces deux étapes précises. On n'a pas rapporté à ce jour, des données précises sur les effets extra-rénaux de la néphropathie à la puromycine dans les divers territoires de la microcirculation.

L'extravasation de protéines à travers la barrière endothéliale peut être quantifiée en utilisant une variété de techniques (PATTERSON et al., 1992). Nous avons choisi le Bleu d'Evans, colorant qui se lie spécifiquement à l'albumine plasmatique (RAWSON et al., 1943). Il traverse la membrane capillaire sans en être dissocié. C'est un marqueur physiologique sensible pour la mesure de l'oedème du poumon perfusé avant même qu'une prise de poids soit détectable (PATTERSON et al., 1992). Bien que des critiques ont été émises pour ce qui est de la fiabilité de cette technique (instabilité du BE, dissociation de l'albumine, variation de ses effets selon le pH, l'osmolarité) les travaux de LEHOUX et al., (1994) ont très bien validé la méthode. De plus, la contamination par le résidu de BE dans le compartiment vasculaire a été estimée à moins de 10% dans les études de LEHOUX et al., ainsi que dans des études indépendantes provenant d'autres laboratoires (JANCAR et al., 1988).

1. PROFIL DE LA NATRIURESE EN FONCTION DU TEMPS

Durant la néphropathie, on a observé une rétention hydrosodique au stade précoce de la maladie, suivie d'un phénomène d'échappement à un stade plus avancé. On a remarqué à ce moment, une augmentation de la perméabilité capillaire rénale à l'albumine

pouvant s'accompagner d'un oedème intrarénal et d'une rétention de sel conduisant au développement d'oedèmes avec gain de poids des animaux (VOGHT et FAVRE, 1991). Une polémique s'est installée sur l'origine de ce phénomène (BROWN et al., 1985). D'aucuns pensent qu'il s'agit d'un problème rénal intrinsèque, d'autres d'une conséquence de changements dans l'activité d'hormones impliquées dans l'homéostasie hydro-sodique.

1.1. PROBLEME RENAL INTRINSEQUE

Deux théories ont été proposées par HUMPHREYS et RECTOR (1985). La première stipule que la réduction du volume plasmatique due à la baisse de pression oncotique est associée au transfert de fluide du plasma dans l'espace interstitiel. Ce phénomène diminue le compartiment sanguin, réduit le flot sanguin rénal. On assiste à la stimulation du système rénine-aldostérone, qui joue un rôle important dans la régulation des paramètres hémodynamiques rénaux observés. Ce mécanisme est rencontré dans les néphropathies à lésion minime (comme dans notre étude) chez les enfants. La deuxième théorie suggère plutôt l'existence chez les adultes, d'une expansion du volume plasmatique et d'une réduction de rénine et d'aldostérone. Toutefois, BROWN et al., (1985) en traitant leurs patients aux stéroïdes, ont constaté une excrétion hydro-sodique importante, suivie d'une normalisation de la créatinine plasmatique. La natriurèse observée était associée à une diminution de la protéinurie des patients; ce qui expliquait la correction des

mécanismes intra-rénaux de ceux-ci. Ainsi CHONKO et al., (1985), affirment que l'événement primaire responsable de la rétention sodique est dû à un mécanisme rénal intrinsèque défectueux; hypothèse confirmée par ICHIKAWA et al., (1983) qui décrivaient l'effet de la puromycine sur un seul rein. Comme nous verrons plus loin, l'augmentation de la perméabilité capillaire dans le rein au jour quatre, associée à l'oedème rénal, peut expliquer l'incapacité de ce dernier à excréter le liquide accumulé dans le secteur extracellulaire. A l'issue de cette analyse, l'hypothèse sur la stimulation du système rénine-aldostérone peut mieux expliquer les phénomènes observés au stade précoce de notre étude.

1.2. RÉPONSE HORMONALE

La rétention de sel observée dans notre étude entraîne une expansion du volume extracellulaire; phénomène physiologique qui stimule la libération des hormones natriurétiques. En effet, une quantité de composés endogènes avec des propriétés natriurétiques ont été identifiés pour la première fois par DEWARDENER et al., (1961) qui démontraient que la réabsorption de sodium au niveau des tubules diminuait chez des chiens perfusés avec de grandes quantités de sel. De plus, l'expérience de circulation croisée entre un chien donneur ayant subi une surcharge saline et un receveur normal, entraînait une natriurèse significative chez l'animal normal; ce qui suggère la relâche des substances natriurétiques (DEWARDENER et al., 1985). Parmi ces composés, les

peptides natriurétiques (BALLERMAN et BRENNER, 1985) et l'ouabaine récemment identifié (BLAUSTEIN, 1993) ont des effets sur la dynamique externe et interne de fluide. En effet, le peptide de l'oreillette élève la quantité de sel filtré par ses propriétés vasodilatatrices glomérulaires, augmentant ainsi la natriurèse. Il inhibe le transport tubulaire de sodium dans le néphron distal (BALLERMAN et BRENNER, 1985), et active la perméabilité glomérulaire associée à une redistribution de fluide corporel (ALMEIDA et al., 1986). Il est probable que, le mécanisme le plus important de la distribution de fluide interne entre les compartiments cellulaire et interstitiel soit dû à l'ouabaine endogène (BLAUSTEIN, 1993) dont le site de liaison a été identifié sur la sous-unité alpha de la pompe Na K ATPase. L'activité de cette enzyme consiste à rejeter les ions sodium à l'extérieur de la cellule et à faire rentrer les ions potassium. Lorsque cette hormone se fixe sur cette pompe, elle inhibe son effet, on assiste alors à une redistribution de fluide. En effet, le volume hydrosodique circulant dans les compartiments liquidiens va être finalement excrété, ce qui peut traduire la "natriurèse d'échappement" observée au stade avancé de notre étude.

Toutefois, VOGHT et FAVRE (1991) ont mesuré l'activité Na K ATPase des rats néphrotiques et évalué le rôle de l'ouabaine endogène. On assiste à une activité croissante de cette enzyme (JORGENSEN, 1986; KATZ et al., 1979) dans le tube collecteur cortical (TCC) qui est le site de rétention de sel. Cette activité enzymatique est en relation avec le degré de rétention de sel;

aussi elle est physiologiquement modulée par certains facteurs hormonaux et les concentrations de sodium (DOUCET, 1988; GARG et al., 1981). Parmi ces hormones, on rencontre les minéralocorticoïdes et l'ouabaine endogène (LOUIS et FAVRE, 1980). Bien que le rôle des minéralocorticoïdes dans la rétention sodique ne soit pas clair (LOUIS et FAVRE, 1980; FAVRE et al., 1979), l'ouabaine, hormone puissante (FAVRE, 1982; FAVRE, 1988) dont le niveau corrèle avec le volume de fluide extracellulaire (LOUIS et FAVRE, 1980; FAVRE et al., 1979) a un effet natriurétique puisqu'elle inhibe Na K ATPase dans les segments distaux du néphron (CHONKO et al., 1977). On peut penser que la rétention sodique observée dans le syndrome néphrotique est secondaire à la production inadéquate de l'ouabaine endogène, résultant d'une stimulation de l'activité enzymatique dans le TCC; rétention pouvant s'expliquer aussi par les anomalies de la filtration glomérulaire (GFR) suivie d'une résistance à l'écoulement de fluide et de solutés dans les tubules rénaux.

Cette hypothèse supplémentaire a été observée par les études de microponction rénale sur la rétention de sel chez les rats néphrotiques (KURODA et al., 1979). Ces études ont révélé qu'il y a une résistance accrue à l'écoulement de fluide. Comme dans notre étude, ils ont aussi observé au stade précoce de la maladie une rétention hydro-sodique active et une réduction de GFR, suivie d'une augmentation de la réabsorption fractionnelle d'eau dans les tubes proximaux. Toutefois, dans les tubes proximaux, la pression hydrostatique et le diamètre sont élevés alors que ces paramètres

sont constants dans les tubes distaux. Ainsi l'élévation des gradients de pression entre les tubes proximaux et distaux, suggèrent qu'il existe une importante résistance entre ces deux segments. Résistance qui peut être causée par la présence de protéines dans le liquide tubulaire. Cependant, selon KURODA et al. (1979), au cours d'autres maladies rénales de l'homme ou de l'animal comportant une diminution comparable ou plutôt une élévation du débit de filtration, la rétention sodique tant évoquée ne survient pas; par conséquent l'excrétion fractionnelle de sodium est accrue. Ainsi, l'accroissement de la réabsorption fractionnelle proximale secondaire à la gêne de l'écoulement de fluide et solutés au cours de la néphropathie, pourrait être un autre facteur important de la rétention sodique.

2. ANOMALIES DE LA PERMÉABILITÉ CAPILLAIRE EXTRA-RÉNALE

2.1. Hétérogénéité de la distribution tissulaire du bleu d'Evans

Nos résultats démontrent une variation de Bleu d'Evans dans les organes des rats témoins. Cette hétérogénéité montre que, l'endothélium régularisant les échanges entre les compartiments interstitiel et plasmatique, diffère d'un tissu à l'autre.

En effet, les caractéristiques des cellules endothéliales diffèrent selon les types de capillaires. Il en est de même pour leur densité dans différents tissus (WIGG et al., 1992) et le degré de perfusion des organes; ce dernier paramètre représente dans les

organes périphériques (la peau et le muscle squelettique): 25% du débit cardiaque, les organes splanchniques: 50%, les reins et le tractus gastro-intestinal respectivement 23 et 28% (GUYTON et al., 1982). Notons aussi que l'endothélium est naturellement hétérogène, que ce soit dans les gros vaisseaux comme les artères et les veines ou dans les capillaires. Les organes tels que le glomérule et la muqueuse intestinale revêtent un endothélium fenêtré alors qu'il est continu pour d'autres. L'ultrastructure des cellules endothéliales se distingue aussi pour ce qui est de leurs épaisseurs, formes et jonctions serrées (LAPOSATA et al., 1983); ces caractéristiques déterminent la conductibilité hydraulique des capillaires au regard de leurs ultrastructures spécifiques.

Il existe une distribution hétérogène de BE en fonction du temps dans la néphropathie à la puromycine, induisant deux phases distinctes. **Une phase précoce** où il existe une augmentation de l'extravasation au Bleu d'Evans dans le pancréas et le rein. Aucun changement significatif dans les autres tissus. Ces variations sont corrigées par l'administration du furosémide à une dose de 1mg/Kg. **Au stade avancé**, l'anomalie perçue dans le pancréas disparaît. Ce qui laisse penser qu'il peut être le siège de phénomènes transitoires se déclenchant plus tôt dans la néphropathie, et disparaissant par la suite. Aussi l'hyper-perméabilité est observée dans le rein à ce moment, suivie d'une diminution dans le poumon, le coeur et le muscle squelettique. Les phénomènes perçus dans les organes thoraciques (poumon) révèlent une absence d'oedème, ce qui peut expliquer la survie des animaux. Ces anomalies peuvent

s'expliquer par les altérations structurelles et fonctionnelles des capillaires.

L'actine F maintient la structure des cellules endothéliales pour plusieurs raisons (SHASBY et al., 1982): d'abord c'est un monomère globulaire qui s'assemble réversiblement pour former de longs filaments; par conséquent, les altérations de cet assemblage provoquent une mauvaise consistance cytoplasmique qui s'accompagne d'une déformation de ces cellules. Ensuite, les fibres longues d'actine F sont organisées en bandes suffisamment rigides et par conséquent peuvent maintenir les cellules endothéliales dans une configuration particulière.

Dans les études in vitro, MAJNO et al., (1969) ont observé dans le muscle cremaster, une augmentation de la perméabilité des vaisseaux sanguins induite par l'histamine. Cette substance cause des trous entre les cellules endothéliales par la contraction active de celles-ci; hypothèse confirmée par JORIS et al., (1972) dans une préparation de veinules mésentériques des rats. DOUGLAS (1985) rajoute que cette contraction peut être induite via les récepteurs H1 situés sur les membranes endothéliales des vaisseaux sanguins (SIMIONESCU et al., 1982; HIDE et al., 1988; NOSO et al., 1990). Les études in vitro des cellules endothéliales d'aorte de boeufs (MALIK et al., 1989) révèlent que l'histamine et la thrombine induisent des trous intercellulaires dans l'endothélium, créant une altération de filaments d'actines, qui sont nécessaires pour réguler la forme des cellules endothéliales (MALIK et al., 1989).

Dans les cultures humaines de veines ombilicales des cellules endothéliales (HUVECs), l'histamine conduit à un changement dans la distribution des filaments d'actine (NIIMI et al., 1992). Dans les conditions physiologiques ces filaments sont associés à la vinculine (composé puissant d'adhérence fonctionnelle) et jouent un rôle important dans l'adhérence cellulaire (WONG et al., 1986). Situés près de la membrane plasmique apicale, ils maintiennent l'intégrité structurelle des cellules endothéliales (WHITE et FUJIWARA, 1986). C'est pourquoi leur destruction dans les conditions pathologiques entraîne une altération de la perméabilité vasculaire (SHASBY et al., 1982). Ce qui peut expliquer les anomalies de perméabilité observées dans cette étude.

Les effets des médiateurs tels que la thrombine, l'histamine et les changements morphologiques des cellules endothéliales peuvent être liés à l'influence du calcium sur les filaments d'actines. Ces médiateurs augmentent la perméabilité macromoléculaire endothéliale, causent aussi une élévation du niveau du calcium intracellulaire (WONG et al., 1983) sur les préparations in vivo de cellules endothéliales. YING et al. (1980) constatent que la réduction de la concentration en calcium s'accompagne d'une dépolymérisation de l'actine et par conséquent d'une déformation endothéliale. L'altération de la perméabilité par l'histamine, est associée à l'influx et à la séquestration calcique (LUM et al., 1987). Bien que les mécanismes de contraction des cellules endothéliales et/ou l'organisation des «Tight junction» ne soient pas entièrement connus, certains agents tel que l'actine

intracellulaire est reconnu pour être l'élément contractile responsable de la contraction des cellules-ci avec la participation du calcium intracellulaire (PLANTE et CHAKIR, 1994). La quantité importante de BE observée dans cette étude peut s'expliquer par l'altération du cytosquelette des cellules endothéliales.

Les études de KASINATH et al., (1988) sur les cellules épithéliales glomérulaires chez un animal néphrotique à la puromycine, ont révélé la présence in vivo de protéoglycans dans la membrane basale glomérulaire. Durant cette maladie, l'altération de la membrane était associée à une diminution des protéoglycans dans les cellules épithéliales glomérulaires. Aussi, GROGGER et al., (1987) ont découvert, au stade précoce des néphropathies (induites par le même composé), l'existence d'une réduction générale de la synthèse des glycopeptides sulfatés et d'une diminution de 33% pour l'héparane sulfate; ainsi la réduction de ces constituants au cours de cette maladie peut expliquer l'extravasation d'albumine observée dans le rein.

2.2. Fonctionnement des cellules endothéliales

L'énergie requise pour le transport paracellulaire endothélial dérive de deux sources: d'abord des paramètres hémodynamiques capillaires (au niveau des résistances pré- et post-capillaires qui déterminent les pressions hydrostatique et oncotique (AUKLAND, 1981 et 1993), ensuite de la contraction des cellules endothéliales qui

induit le dysfonctionnement de celles-ci (WYSOLMERI, 1990). En effet, dans les conditions normales, il existe un équilibre dans la dynamique des fluides vasculaires et interstitiels, déterminé par les forces de Starling. Les cellules endothéliales représentant plus qu'une simple couche cellulaire, sépare le sang des tissus. Elles réagissent aux forces mécaniques et à une variété de substances produites soit localement ou circulant dans le sang. Les artérioles et les veinules de la microcirculation contiennent des cellules musculaires lisses répondant à une variété d'autacoïdes et hormones secrétés par l'endothélium. En condition pathologique, les cellules endothéliales relâchent des médiateurs de l'inflammation qui influencent la distribution de fluide et de solutés par l'altération de la perméabilité vasculaire (ELICES et al., 1990); c'est le cas du facteur d'agrégation plaquettaire (PAF) (SIROIS MG et al., 1988; 1990), la bradykinine (Plante et al., 1992), les endothélines-1 et-3 (LEHOUX et al., 1992), l'oxyde nitrique (NO) (MONCADA et al., 1991), les peptides natriurétiques (ANP) et finalement une variété d'autres cytokines. Ces substances vasoactives modulent les résistances pré- et/ou post- capillaires; c'est le cas de l'endothéline, peptide de 21 acides aminés qui est un puissant vasoconstricteur (YANAGISAWA et al., 1988). En plus de son action sur le muscle lisse, ce peptide cause une contraction directe des cellules mésangiales glomérulaires (BADR et al., 1989). Toutefois, l'endothéline-1 a un effet constricteur prédominant sur le segment veineux de la microcirculation comparé à l'artériole; ce qui entraîne une dilatation des précapillaires qui s'accompagne

d'une augmentation de la pression de filtration. Ainsi, on assiste à une extravasation de fluide et de solutés dans l'interstitium, qui traduit une élévation locale de la perméabilité capillaire aux protéines (SMITH et KAMPIRE, 1990), comme dans notre étude. Une constriction des précapillaires par l'angiotensine II, avec une résistance post-capillaire constante, peut expliquer la diminution de la perméabilité au BE observée dans le muscle squelettique. Cette anomalie corrigée par le furosémide à un stade avancé de la maladie, expliquerait la mobilisation du fluide extrarénal qui traduit l'absence de résistance au diurétique.

La paroi endothéliale de la microcirculation semble être une membrane poreuse qui laisse passer solutés et fluide entre le plasma et l'espace interstitiel hétérogène. Les solutés se déplacent du plasma vers l'interstitium par filtration selon un gradient de pressions hydrostatique et oncotique. Les résistances pré- et post-capillaires ont un tonus contrôlé par les facteurs humoraux. L'extravasation des solutés et liquides en pathologie dépend de la forme et configuration des cellules endothéliales, déterminées par l'altération des éléments du cytosquelette tel que l'actine, ce phénomène étant régulé par les seconds messagers intracellulaires comme le calcium cytoplasmique.

3. REPONSE DES ANIMAUX AU FUROSEMIDE

Le furosémide, puissant diurétique utilisé pour traiter des

patients ayant une rétention de fluide sévère, induit une diurèse prédominante en bloquant la réabsorption luminale de sodium et chlore dans les tubules rénaux (JACKOBSON et KOKKO, 1976). La présente étude révèle l'existence de deux mécanismes pathophysiologiques. Une diurèse et une natriurèse très développées au stade avancé de la maladie; par contre, au stade précoce, il existe plutôt une résistance à ce diurétique. La résistance aux diurétiques est fréquemment rencontrée chez des patients à hypoalbuminémie sévère (YLITALO et al., 1980; PILLAY et al., 1972). Afin de vérifier l'effet de ce dernier, on a soumis les rats normaux au même traitement, ce qui a révélé une excrétion urinaire importante.

Toutefois, l'effet diurétique du furosémide (furo) dépend de sa biodisponibilité (AHMAD, 1974; RANE et al., 1978), sa distribution, son élimination (CHENNAVASSIN et al., 1979; ODLIN et BEERMANN, 1980) et sa réponse aux drogues administrées (KELLER et al., 1981; BRATER et al., 1980). A cet effet, les études de microponctions sur des rats ont montré la sécrétion au niveau du tube proximal de ce diurétique (DEETJEN, 1966); il en est de même pour les techniques de clairance (CALESNICK et al., 1966). Après une injection intraveineuse (IV) de 40 mg de furo à des patients néphrotiques, KELLER et al. (1982) ont observé que l'excrétion d'eau et de sel diminuaient, l'excrétion du ratio Na/Furo révélait une résistance tubulaire au furo durant l'excrétion de ce dernier; même par voie orale, la diurèse était diminuée (GRENN et MIRKIN, 1979). Ainsi, la réduction du niveau d'albumine plasmatique durant

cette maladie, peut influencer sa liaison au furo et par conséquent, affecter sa biodisponibilité au site d'action. Aussi, pour expliquer le mécanisme de résistance au furo chez les rats analbuminémiques (Nar) et les patients hypoalbuminémiques, INOUE et al. (1987) ont constaté que, les effets du furo en IV chez les rats normaux s'accompagnaient d'une abondante natriurèse alors que ce paramètre n'était pas observé chez les Nar comme dans notre étude; pourtant, le volume de distribution et la clairance plasmatique du diurétique étaient élevés à cause d'une baisse d'albumine plasmatique qui affecte la biodisponibilité du furosémide.

Toutefois, le mécanisme de résistance peut s'expliquer par l'hypoalbuminémie des patients néphrotiques, qui conduit à une réduction de la libération du diurétique dans l'espace rénal péritubulaire (INOUE et al., 1987). Cette mauvaise biodisponibilité est associée à une diminution de la quantité filtrée et une réduction de la sécrétion du furosémide. Ceci peut expliquer l'absence de l'action dans l'anse et un défaut de mobilisation de l'eau extravasculaire. Selon GREEN et MIRKIN, (1979), les effets de la liaison des protéines urinaires au furo chez des rats néphrotiques et normaux ont montré que, cette liaison variait de 60 à 95 % selon la concentration des protéines urinaires. La réponse de furo atteignant la lumière tubulaire rénale en vue d'exercer son effet (JACKOBSON et KOKKO, 1976; GREEN et MIRKIN, 1979) était inversement proportionnelle au degré de protéinurie, découverte indépendante de la concentration des protéines dans le sérum ou de la filtration glomérulaire; ce qui suggère que la liaison du furo

aux protéines urinaire diminue la concentration de la drogue libre et, par conséquent l'effet diurétique. Les interactions drogue-protéines de ce genre peuvent moduler l'activité diurétique, montrant ainsi un haut degré de liaison protéique au furosémide.

Les études pharmacocinétiques sur la biodisponibilité du furosémide chez les patients normaux, néphrotiques et urémiques (RANE et al., 1978) ont révélé que la clairance rénale du diurétique et sa demi-vie chez les néphrotiques n'étaient pas altérées. Ce qui écarte l'hypothèse d'une résistance d'origine pharmacocinétique ou pharmacodynamique naturelle. Sa biodisponibilité ne dépend pas seulement de la fonction rénale mais aussi de la concentration d'albumine sérique (RANE et al., 1978). En effet, plusieurs études montrent aussi que, la maladie rénale affecte la cinétique de cette drogue (BEERMAN et al., 1977; CUTLER et al., 1974; HUANG et al., 1974).

Bien que ce mécanisme soit courant chez les patients néphrotiques, nos résultats ont révélé comme les observations de HILDEBRANT et BANK, 1989), une correction de la résistance rénale à un stade avancé.

Certaines études ont montré que l'administration du furosémide lié à l'albumine en IV entraînait chez les rats néphrotiques une réduction du volume de distribution (VD), une baisse de la clairance plasmatique (CP) du diurétique et une natriurèse importante (INOUE et al., 1987). Ainsi, cette liaison peut expliquer une amélioration de la biodisponibilité du furosémide par sa sécrétion efficace au niveau du tube proximal (Pars recta) par

le système transport des acides organiques non spécifiques (CHENNAVASSIN et al., 1979). Cette sécrétion est inhibée par le probénécid (HOOK et WILLIAMSON, 1965); leurs études sur le chien ont révélé que cet inhibiteur éliminait l'effet natriurétique du furo, ce qui permet de confirmer que la sécrétion de ce dernier est probablement requise pour une concentration effective de la drogue pour atteindre son site luminal d'action.

D'autres études sur des reins isolés perfusés de rats ont plutôt montré que la liaison des protéines bovines sériques à ce diurétique est puissante au point où la sécrétion de ce dernier est supprimée par le système de transport des acides organiques du tubule rénal. Bien que cet effet in vitro soit similaire dans les études in vivo (BOWMAN et al., 1973), la question sur l'altération de la sécrétion rénale des substances suite à leurs liaisons aux protéines plasmatiques n'a pas été examinée minutieusement (BOWMAN, 1975). Selon (SMITH, 1951; BRODIE, 1966; REIDER, 1963), cette liaison n'a pas été considérée comme facteur limitant la sécrétion. Ainsi il semble que le degré de liaison peut influencer la cinétique de sa sécrétion (BOGHPRAEF et al., 1956; RIGGS, 1963).

L'effet du furosémide sur les anomalies de perméabilité comme vues précédemment dans le muscle squelettique, est associé à une correction de la mobilisation du fluide extrarénal. En effet, ce diurétique contracte le muscle lisse, affecte le système vasculaire: artériel et veineux (VANBREEMEN et al., 1979; OWEN 1984) en modifiant les résistances pré- et post- capillaires dans le lit de microcirculation du muscle squelettique. Ainsi, on

assiste tardivement à une accentuation de l'effet diurétique.

A la lumière de ces observations, nous voyons que la clairance rénale de ce diurétique implique deux mécanismes: la filtration glomérulaire et la sécrétion tubulaire active. Dans les conditions normales, seulement la drogue libre dans le plasma peut être filtrée au niveau du glomérule (RANE et al., 1978). Bien qu'il existe une réduction de ce paramètre hémodynamique rénal dans notre étude, nous pouvons dire qu'il existe un double accès du diurétique au site luminal de l'anse ascendante de henle où il inhibe le cotransport $\text{Na K } 2\text{Cl}$, ce qui peut expliquer ses effets natriurétique et diurétique ou encore le mécanisme de non résistance inattendu dans notre étude. Aussi, le traitement s'est fait durant un temps court et pas sur une longue période comme dans la plupart des études cliniques.

4. L'EFFET DU FUROSEMIDE SUR LA PROTÉINURIE

Nous avons observé dans cette étude une protéinurie massive chez les rats néphrotiques, qui tend à s'accroître après le traitement au furosémide, avec une filtration glomérulaire (GFR) basse. Cette observation, peu connue de nos jours, risque d'aggraver la pathologie des néphrotiques. Déjà, la néphropathie des rats a révélé des altérations de la perméabilité glomérulaire, au cours de la protéinurie induite par l'adriamycine (WEENING et RENKE, 1983). Ces résultats montrent que cette protéinurie ressemble à celle induite par les aminonucléosides.

L'administration du diurétique quotidiennement s'accompagne d'une bonne distribution dans l'organisme, à cause de l'hypoalbuminémie des animaux malades. Ceci explique sa biodisponibilité dans la circulation sanguine. Ainsi il peut être filtré en même temps que les protéines au niveau du glomérule à cause de leur liaison, et sécrété au niveau de la pars recta. On assiste à une concentration importante du diurétique dans les tubules rénaux ou encore, au double accès de ce dernier au niveau du site luminal; ce qui peut induire une synthèse hormonale importante, associée à des phénomènes vasoactifs comme la vasodilatation des pré-capillaires glomérulaires et la constriction des veinules.

D'autres études confirment que le furosémide administré chez l'homme en IV, augmente l'excrétion urinaire de protéines (PASTERNAK et al., 1978; YLITALO et al., 1980) mais que ce phénomène est en relation avec une élévation de GFR (PiLLAY et al., 1972). En plus de l'excrétion de fluide, le diurétique accroît le flux sanguin rénal (HOOK et BAILIE, 1977), qui coïncide avec la concentration accrue des prostaglandines vaso-dilatatrices (WILLIAMSON et al., 1975; WILSON et al., 1982) sécrétées par les reins; ce qui atteste l'effet du furosémide sur la sécrétion des hormones rénales. Aussi MICHIELSEN et LAMBERT (1967), démontraient que l'indométhacine pourrait réduire le niveau de protéinurie des patients néphrotiques. Cet effet pourrait être médié par l'inhibition de la synthèse rénale des prostaglandines (DONKER et al., 1978; VRIESENDORP et al., 1985) en influençant la perméabilité glomérulaire de la membrane basale (TIGGELER et al., 1979). Pour

ALA-HOUHALA et PASTERNAK (1987), l'effet (IV) du diurétique sur la perméabilité glomérulaire des patients néphrotiques, en corrélation avec les paramètres hémodynamiques, a révélé plutôt un accroissement de la clairance d'inuline, une protéinurie marquée et une fraction d'immunoglobuline G (IgG) élevée par rapport à l'albumine. Ces résultats révèlent que le traitement induit même une excrétion des macromolécules en fonction de leurs tailles moléculaires (PASTERNAK et al., 1978; YLITALO, 1980). Le furosémide peut augmenter le pH urinaire, qui résulte d'une excrétion de prostaglandines (PUSCHETT et al., 1968; HAYLOR et al., 1984). Celles-ci peuvent provoquer l'altération physico-chimique de l'endothélium et causer une perméabilité glomérulaire accrue, en influençant les pores effectifs de la paroi des capillaires glomérulaires et induire une protéinurie massive.

CONCLUSION

Les travaux effectués sur le syndrome néphrotique chez les rats, permettent de tirer les conclusions suivantes:

1. Il existe deux mécanismes pathophysiologiques différents durant la néphropathie induite par la puromycine.
2. La phase précoce présente une rétention sodique, qui entraîne des oedèmes. Le traitement au furosémide révèle une réduction de la natriurèse et de la diurèse: Il s'agit d'un mécanisme de résistance au diurétique.
3. La phase tardive montre une hyperexcrétion de sel accompagnée d'une importante diurèse. Le furosémide induit une accentuation du phénomène natriurétique qui est associé à la correction des anomalies de perméabilité capillaire observées dans le muscle squelettique. Cette "natriurèse d'échappement", peut s'expliquer à ce stade par la stimulation de la sécrétion d'hormones natriurétiques.
4. L'accentuation marquée de la protéinurie induite par la puromycine, et très prononcée par le furosémide, soulève des questions importantes sur le plan thérapeutique chez le patient néphrotique., il s'agit du choix d'action des agents diurétiques sur la perméabilité capillaire, le phénomène de résistance aux diurétiques chez les patients néphrotiques.

5. Il existe une distribution hétérogène du bleu d'Evans dans différents tissus, et ce en fonction du temps. Les anomalies de perméabilité capillaire au BE révèlent une augmentation dans le rein en phases précoce et tardive, une diminution importante dans le muscle squelettique (réservoir d'eau) en phase tardive. Cette anomalie est corrigée par le furosémide, ce qui pourrait expliquer en partie la réponse diurétique plus efficace à ce moment.

REMERCIEMENTS

Je remercie sincèrement:

- Mon directeur de recherche le Docteur Gérard E. Plante pour ses conseils et encouragements qui m'ont permis de réaliser ce travail.
- Ma famille, pour son soutien matériel, moral, spirituel et ses encouragements durant mes études.
- Mmes Marie Bergeron et Angèle Chainey pour leur collaboration technique.
- Les étudiantes Stéphanie Lehoux et Mouna Chakir, pour leurs conseils.

BIBLIOGRAPHIE

- AHMAD, S. (1974) Renal insensitivity to furosemide caused by chronic anticonvulsant therapy. Br. Med. J. 3: 657-659.
- ALA-HOUHALA, I., VAPAATALO*, H., and PASTERNAK, A. (1987) Intravenously administered frusemide increases glomerular permeability. Clin. Sci. 73: 365- 70.
- ALMEIDA, FA., SUZUKI, M., MAACK, T. (1986) Atrial natriuretic factor increases hematocrit and decreases plasma volume in nephrectomized rats. Life Sci. 39:1193-99.
- AUCKLAND, K., NICOLAYSEN, G. (1981) Interstitial fluid volume: local regulatory mechanisms. Physiol Rev. 61:556-643.
- AUCKLAND, K., REED, RK. (1993) Interstitial-lymphatic mechanisms in the control of extracellular fluid volume. Physiol. Rev. 73:1-78.
- BADR, K.F., MURRAY, J.J., BREYER, M.D., TAKAHASHI, K., INAGAMI, T., HARRIS, R.C. (1989) Mesangial cell, glomerular and renal vascular responses to endothelin in the rat kidney. J. Clin. Invest. 83:336-42.

BALLERMAN, B., BRENNER, BM. (1985) Biologically active atrial peptides. J Clin. Invest. 76:2041-48.

BEERMANN, B., DALEN, E., LINDETROM, B. (1977). Elimination of furosemide in healthy subjects and in those with renal failure. Clin. Pharmacol. Ther. 22: 70-78.

BERNE, R.M., LEVY, M.N. Cardiovascular physiology. In Cardiovascular Physiology. 5th edition. (1986). Mc Graw-Hill, Toronto. p1-4.

BLAUSTEIN, MP. (1993) Physiological effects of endogenous ouabain: control of intracellular Ca^{++} stores and cell responsiveness. Am. J. Physiol. C1367-87.

BORGHGRAEF, R.R.M., KESSLER, R.H., PITTS, R.F. (1956) Plasma regression, distribution and excretion of radiomercury in relation to diuresis following the intraveinuous administration of Hg 203 labelled chlormerodin to the dog. J. Clin. Invest. 35: 1055-1066.

BOWMAN, R. H. (1975) Renal secretion of [35S] furosemide and its depression by albumin binding. Am. J. Physiol. 229: 93-97.

- BOWMAN, R.H., DOLOGIN, J., COULSON, R. (1973) Furosemide, ethacrynic acid, and iodoacetate on function and metabolism in perfused rat kidney. *Am. J. Physiol.* 224: 1200-1205.
- BRATTER, D.C., CHENNAVASSIN, P., SEIWELL, R. (1980) Furosemide in patients with heart failure: shift in dose-response curves. *Clin. Pharmacol. Ther.* 28: 182-186.
- BRENNER B.M. and RECTOR F.C. (1986). *The kidney*. W.B.Saunders Co, Canada. p891-991.
- BRODIE, B.B. Pharmacological and clinical implications of drug transport. In: *Transport of Plasma Proteins*. P. Desgrez; P.M. De Traverse (eds). New York: Elsevier. (1966) p140.
- BROWN E.A., MARKANDU, N., SAGNELLA, G.A., JONES, S. B., MCGREGOR, G.A (1985) Sodium Retention in Nephrotic Syndrome Is Due to an Nephron. 290-5.
- BROWN, E.A., MARKANDU, N.D., ROULSTON, J.E., JONCS, B. E., SQUIRES, M., MCGREGOR, G.A. (1982) Is the renin-angiotensin aldosterone system involved in the sodium retention in the nephrotic syndrome? *Nephron* 32:102-107.

- CALESNICK, B., CHRISTENSEN, J. A., RICHTER, M. (1966) Absorption and excretion of furosemide S35 in human subjects. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 123: 17-22.
- CHENNAVASIN, P., SEIWELL, R., BRATER, D.C., et al. (1979) Pharmacodynamic analysis of the furosemide-probenecid interaction in man. Kidney. Int. 16: 187-95.
- CHONKO, A.M., BAY, W.H., STEIN, J.H., RERRIS, T.F. The role of renin aldosterone in the salt retention of edema. (1977) AM. J. Med 63: 881-88.
- CHRISTENSEN, L., MULVANY, P. (1989) Development of blood pressure in spontaneously hypertensive rats after withdrawal of long-term tissue polysaccharides. treatment related of vascular structure. J. Hypertens. 7:83-90.
- COMPER, WD., LAURENT, TC. (1978) Physiological function of connective Physiol. Rev. 58:255-315.
- COOPER, J.A., DEL VECCHIO, P.J.; MINNEAR, F.L. (1987) Measurement of albumin permeability across endothelial monolayers in vitro. J. Appl. Physiol. 62:1076-83.

- CREPEAU, R., ROMEDER, JM., DEVROEDE, G., PLANTE, GE. (1977)
Effect of saline infusion and acute metabolic acidosis and alkalosis on water and electrolyte transport in the human colon. Can. J. Physiol. Pharmacol 55:13-20.
- CUTLER, R.E., FORREY, A.W., CHRISTOPHER, T.G., et al. (1974)
Pharmacokinetics of furosemide in normal subjects and functionally anephric patients. Clin. Pharmacol. Ther. 15: 588-596.
- DEETJEN, P. (1966) Micropuncture studies on site and mode of diuretic action of furosemide. Ann. N. Y. Acad. Sci. 139: 408-415.
- DE WARDENER, HE., CLARKSON, EM. (1985) Concept of natriuretic hormone. Physiol. Rev 65:658-759.
- DE WARDENER, H. H., MILLS, I. H., CLAPHAM, W. F., and HAYTER, C. J. (1961) Studies on the efferent mechanism of the sodium diuresis which follows the administration of intravenous saline in the dog. Clin. Sc. 21: 249.
- DONKER, A.J., BRENTJENS, J.R., VAN DER HEM, G.K. and ARISZ, L. (1978) Treatment of the nephrotic syndrome with indomethacin. Nephron. 22: 374-381.

- DOUCET, A. (1988) Function and control of Na-K-ATPase in single nephron segments of the mammalian kidney. *Int.* 34: 749-60.
- DOUGLAS, W.W. Histamine and 5- hydrox tryptamine (serotonin) and their antagonists. In A. G. Gilman, L.S. Goodman, T.W. Rall, F. Murad (Eds): The pharmacological basis of therapeutics. Mc Millan N.Y. (1985). P 605.
- EDELMAN, J.S., LIEBMAN, J. (1959) Anatomie of body water and electrolytes. *Am. J. Med.* 27: 256-69.
- ELICES, MJ., OSBORN, L., TAKADA, Y., CROUSE C, LUHOWSY S, HEMLEER ME, LOBB RR. (1990) VCAM-1 on activated endothelium interacts with the leucocyte integrin VLA-4 at a site distinct from the VLA-4/fibronectin binding site. *Cell.* 60: 577-84.
- EVANS, T.W., CHUNG, K.F., ROGERS, D.F. et BARNES, P.J. (1987) Effet of platelet activating factor on airway vascular permeability: possible mechanisms. *J. Appl. Physiol.* 63: 479-84.
- FAVRE, H. (1988) Endogenous digitalis-like substances. *Arq. Med.* 2: 99-103.
- FAVRE, H. (1982) Role of the natriuretic factor in the disorders of sodium balance. *Adv. Nephrol.* 11: 3-23.

- FAVRE, H., LOUIS, F., GOURJON, M. (1979) Role of basal sodium intake in the rats on their response to a natriuretic factor. *Plugers. Arch.* 382: 73-79.
- FEIG, P.U. (1986) Cellular mechanism of action of loop diuretics: implication for drug effectiveness and adverse effects. *Am. J. Cardiol.* 57: 14A-19A.
- FERNANDEZ, L.A., RETTORI, O., MEDJIA, R.H. (1966) Correlation between body volumes and body weight in the rat. *Am. J. Physiol.* 210: 877-79.
- GARG, L. C., KNEPPER, M. A. and BURG, M. C. (1981) Mineralocorticoid effects on Na-K-ATPase in individual nephron segments. *Am. J. Physiol.* 240: F536-44.
- GAYER, J. (1965) Die renale Exkretion des neuen Diureticum fusosemid. *Klin. Wochschr.* 43: 898-902.
- GEERS, A.B.; KOOMANS, H.A. BOER, P., DORHOUT MEES, E.J. (1984) Plasma and blood volumes in patients with the nephrotic syndrome. *Nephron* 38: 170-73.

GHITESDU, L., FIXMAN, A., SIMIONESCU, M., SIMIONESCU, N. (1986).

Specific binding sites for albumin restricted to plasmalemmal vesicles of continuous capillary endothelium: receptor-mediated transcytosis. J. Cell. Biol. 102: 1304-11.

GREEN, T.P., MIRKIN, L.B. (1979) Mechanism of resistance to

furosemide diuresis in children with edema. Pediatr. Res. 13: 369.

GRINSTEIN S, ROTHSTEIN A. (1986) Mechanisms of regulation of the

Na/H exchanger. J Membr Biol 10: 1-12.

GROGGER, G.C., HOVINGH, P., BORDER, W.A., LINKER, A. (1987)

Changes in glomerular heparan sulfate in puromycin aminonucleoside nephrosis. Am. J. Pathol 128: 521-27.

GUYTON, AC., COLEMAN, TG., GRANGER, HJ. (1982) Circulation:

overall regulation. Ann. Rev. Physiol. 34: 13-86.

HAYLOR, J., LOTE, C. J., THEWLES, A. (1984) Urinary pH as a

determinant of prostaglandin E2 excretion by the conscious rat. Clin. Sci. 66: 675-681.

HIDE, M., FUKUI, T., WATANABE, H., WADA, YAMAMOTO, S. (1988)

Histamine H1-receptor in endothelial smooth muscle cells of guinea pig aorta. Eur. J. Pharmacol. 148: 161.

- HILDEBRANDT, D.A., BANKS, R. (1988) Effect of atrial natriuretic factor on renal fuction in rats with nephrotic syndrome. Am. J. Physiol. 254: F210-F216.
- HOOK, J.B., BAILIE, M.D. (1977) Release of vasoactive materials from the kidney by diuretics. J. Clin. Pharmacol. 17: 673-680.
- HOOK, J.B., WILLIAMSON, H.E. (1965) Influence of probenecid and alterations i nacid-base balance of saluretic activity of furosemide. J. Pharmacol. Exptl. Therap. 149: 404-408.
- HOUSTON, D.S., SHEPERD, J.T., VANHOUTTE, P.M. (1986). Aggregating human platelets cause direct contraction and endothelium dependent relaxation in isolated canine coronary arteries. J. Clin. Invest. 78: 539-44.
- HUANG, C., ATKINSON, A., LEVIN, M.L. et al. (1974)
Pharmacokinetics of furosemide in advanced renal failure.
Clin. Pharmacol. Ther. 16: 659-666.
- HUMPHREYS, M.H., RECTOR, F. C. (1985) The kidney: physiology and pathology. J. Pathophysiol. Edema Formation. 1163-78.
- ICHIKAWA, I., RENNKE, H.G., HOYER, J.R. et al. (1983) Role for intrarenal mechanisms in the impaired salt excretion of experimental nephrotic syndrome. J. Clin. Invest. 71: 91-103.

- INOUE, M., OKJIMA, K., ITOH, K., ANDO, Y., WATANABE, N., YASAKA, T., NAGASE, S., and MORINO, Y. (1987) Mechanism of furosemide resistance in analbuminemic rats and hypoalbuminemic patients. *Kidney. Int.* 32: 198- 203.
- JACK, MG., HUANG, WH., ASKARI, M. (1989) Characterization of the Na-dependant phosphate transport in sarcolemmal vesicles. *J. Biol Chem.* 264: 3904-8.
- JAKOBSON, H. R., KOKKO, J.P. (1976) Diuretics: Sites and mechanism of action. *Annu. Rev. Pharmacol.* 16: 201-214
- JORGENSEN, P. L. (1986) Structure, function and regulation of Na,K ATPase in the kidney. *Kidney. Int.* 29: 10-20.
- JORIS, I., MAJNO, G., RYAN, G.B. (1972) Endothelial contraction in vivo: a study of the rat mesentery. *Virchows. Arch. Abt. B. Zellpath.* 12: 73.
- KANISATH, B.S., SINGH, A.K., KANWAR, S.Y., LEWIS, E.J. (1988) Effect of puromycin aminonucleoside on HSPG core protein content of glomerular epithelial cells. *Am. J. Physiol* 255: F590-96.

- KATZ, A.I., DOUCET, A., et MOREL, L. (1979) Na-K-ATPase activity along the rabbit rat and mouse nephron. *Am. J. Physiol.* 237: 114-20.
- KELLER, E., HOPPE-SEYLLER, G., SCHOLLMEYER, P. (1982) Disposition and diuretic effect of furosemide in the nephrotic syndrome. *Clin. Pharmacol. Ther.* 32: 442-449.
- KELLER, E., HOPPE-SEYLER, G., MUMM, R. et al. (1981) Influence of hepatic cirrhosis and end-stage renal disease on pharmacokinetics and pharmacodynamics of furosemide. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 20: 27-33.
- KIRCHNER, K.A. (1989) Role of medullary plasma flow in the attenuated furosemide response in indomethacin-treated rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 249: 757-761.
- KJELLEN, L., LINDAHL, U. (1991) Proteoglycans: structure and interactions. *Ann Rev Biochem* 60: 443-75.
- KURADO, S, AYNEDJIAN, S.H., BANK, N. (1979) A micropuncture study of renal sodium retention in nephrotic syndrome in rats: Evidence for increased resistance to tubular fluid flow. *Kidney Int.* 16: 561-571.

- LAI-FOOK, S.J., ROCHESTER, N.L., BROWN, L.V. (1989) Effects of albumin, dextran, and hyaluronidase on pulmonary interstitial conductivity. J. Appl. Physiol. 67 (2): 606-13.
- LANDIS, E.M., PAPPENHEIMER, J.R.. Exchange of substances through the capillary walls. In Hamilton W f, Dow (Eds): Handbook of physiology. Washington, D.C. (1963). p961-1034.
- LANT, A. (1985a) DIURETICS. Clin. Pharmacol. Ther. 29: 57-87.
- LAPOSATA, M., DOVNARSKY, D.K., SHIN, H.S. (1983). Thrombin induced gap formation in confluent endothelial cell monolayers in vitro. Blood 62: 549.
- LAURA, L., PONTO, B. and SCHOENWALD, R.D. (1990) Furosemide (Frusemide) A Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Review (Part I). Clin. Pharmacokinet 18 (5): 381- 408.
- LEHOUX S, PLANTE GE. (1993) Modulation de la perméabilité vasculaire in vivo par des agents qui influencent le cytosquelette. Médecine Sciences 9 (Suppl.1):17.
- LEHOUX, S., SIROIS, M.G., SIROIS, P., PLANTE, G.E. (1994) Acute and chronic diuretic treatment selectively affects vascular permeability in the unanesthetized rat. J. Pharmacol. Exp. Ther., in press.

LEHOUX S, PLANTE GE, SIROIS MG, SIROIS P, D'ORLEANS-JUSTE P.

(1991) Phosphoramidon blocks big-endothelin-1 but not endothelin-1 enhancement of vascular permeability in the rat. Br. J. Pharmacol 104: 797-804.

LORTIE, M., PLANTE, G. E. et al. (1994) Microvascular Research in press.

LOUIS, F., FAVRE, H. (1980) Natriuretic factor in rats acutely expanded by Ringer's versus albumin solution. Kidney. Int. 18: 20-28.

LUM, H., SCHNEIDER, A.S., DEL VECCHIO, P.J., MALIK, A.B. (1987). Increased pulmonary endothelial permeability: dependency on extracellular calcium. J. Cell. Biol. 105: 1853.

MACKNIGHT, ADC., LEAF, A. (1977) Regulation of cellular volume. Physiol. Rev. 57: 510-73.

MAJNO, G., SHEA, S.M., LEVENTHAL, M. (1969) Endothelial contraction induced by histamine type mediators: an electron microscopic study. J. Cell. Biol. 42: 647.

MALIK, A.B.; LYNCH, J.J.; and COOPER, J.A. (1989). Endothelial Barrier function. J. Invest. Dermatol. 93: 62S-67S.

MCDONALD J. Extracellular matrix assembly. (1988) Ann. Rev. Cell Biol. 4: 183-207.

Mc Evoy, G.K., Mc QUARRIE, G.M., DIPIETRO-HEYDORN, J., et al. (Eds). Furosemide USP. Inc. Bethesda, Maryland. (1987) p 1355-59.

MICHEL, C.C. The fluid movements through capillary walls. In E.M. Renkin, C.C. Michel (Eds): Handbook of physiology. Bethesda. (1982). p467-520.

MICHIELSEN, P., LAMBERT, P.P. (1967) Effets du traitement par les corticostéroïdes et l'indométhacine sur la protéinurie. Bulletin et Mémoires de la Société Médicale des Hôpitaux de Paris. 118: 217-32.

MONCADA S, PALMER RM, HIGGS EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. Pharmacol. Rev. (1991) 43: 109-42.

MOVAT, H.Z., DILORENZO, N.L. (1968) Activation of plasma kinin system by antigen-antibody aggregates. I. Generation of permeability factor in guinea pig serum. Lab. Invest. 19: 187-200.

MULLINS von DREELE, M. (1988) Age-related changes in body fluid volumes in young spontaneously hypertensive rats. Am. J. Physiol. 255: F593-96.

NETTER, F.H. The Ciba collection of Medical Illustration: Kidneys, Ureters, and Urinary Bladder. In Ciba pharmaceutical company, R.K. Shapter et F.F. YONKMAN (Eds). Summit, N.J. (1973) P 1-295.

NIIMI, N., NOSON, N., YAMAMOTO, S. (1992). The effect of histamine on cultured endothelial cells. A study of of the mechanisms of increased vascular permeability. Eur. J. Pharmacol. 221: 325-31.

NOSO, N., HIDE, M., NAKAMURA, K., YAMAMOTO. (1990) Histamine H1-receptor of vascular endothelial cells cultured from guinea pig skin. Arch. Dermatol. Res. 282: 115.

ODLIND, B., BEEMANN, B. (1980) Renal tubular secretion and effects of furosemide. Clin. Pharmacol. Ther. 27: 784-90.

OWEN NE. (1984) Regulation of Na-K-Cl cotransport in vascular smooth muscle cells. Biochem Biophys Res Commun 125: 500-08.

PAPPENHEIMER, J.R. (1953) Passage of molecules through capillary walls. Physiol Rev 33: 387.

PAPPENHEIMER, J.R., RENKIN, E. M., and BORERO, L.M. (1951)

Filtration, diffusion and molecular sieving through peripheral capillary membranes: A contribution to the pore theory of capillary permeability. Am. J. Physiol. 167: 13.

PASTERNAK, A., PETTERSON, E. and KLOCKARS, M. (1978) Effect of furosemide on urinary excretion of some plasma proteins. Nephron 22: 551-557.

PATTERSON, CE., RHOADES, RA., GARCIA, JGN. (1992) Evans blue dye as a marker of albumin clearance in cultured endothelial monolayer and isolated lung. J. Appl. Physiol 72: 865-73.

PILLAY, V.K.G., GANDHI, V.C., SHARMA, B.K. et al. (1972) Effect of hydration and furosemide given intravenously on proteinuria. Archives of Internal Medicine. 130: 90-92.

PITTS, R.F. Physiology of the kidney and body fluids. Year book medical publishers inc, Chicago. (1968). p1-278.

PLANTE, G. E., CHAKIR, M. Passive endothelial transport studies in experimental arterial hypertension, diabetes mellitus and chronic renal failure. In: Membrane Pathophysiology. G. BKAILY (ed) . Kluwer Academic Publishers, Norwell. (1994). P 185-206.

PLANTE, G. E., CHAKIR, M., LEHOUX, S., LORTIE, M. (1994)

Disorders of body fluid balance: A new look into the mechanisms of disease. Can. J. Cardiol: 1-33 in press.

PRANDOTTA, J., PRUITT, A, W. (1975) Furosemide binding to human albumin in plasma of nephrotic children. Clin. Pharmacol.

Ther. 17: 159-66.

PUSCHETT, J. B., GOLDBERG, M. (1968) The acute effects of furosemide on acid and electrolyte excretion in man. J. Lab.

Clin. Med. 71: 666-677.

RANE, A., VILLENEUVE, J.P., STONE, W.J., NIES, A. S., WILKINSON, G.R. and BRANCH, R.A. (1978) Plasma binding and disposition of furosemide in the nephrotic syndrome and in uremia. Clin.

Pharmacol. Ther. 24: 199-207.

RAWSON, R.A. (1943). The binding of T-1824 and structurally related diazo dyes by the plasma proteins. Am. J. Physiol.

138: 708-17.

REEVES, W.B., MOLONY, D.A. (1988) The physiology of loop diuretics. Semin. Nephrol. 8: 225- 233.

REIDER, J. (1963) Physikalisch-chemische und biologische untersuchungen an sulfonamiden. Arzneimittel-Forsch. 13: 95-103.

- RIGGS, D. S. The Mathematical Approach to physiological problem.
Williams; Wilkins (ed). Baltimore.(1963) p267.
- ROGERS, DF., BOSCHETTO, P., BARNES, PJ. (1989) Plasma exudation:
correlation between Evans blue dye and radiolabeled albumin in
guinea pig airways in vivo. J. Pharmacol. Meth. 21: 309-15.
- ROUSLAHTI, E., ENGVALL, E. (1980) Complexing of fibronectin
glucosaminoglycans and collagen. Biochem. Biophys. Acta
631: 350-58.
- RUOSLATHI E, PIERSCHBACHER MD. New perspectives in cell adhesion:
RGD and integrins. Science (1987) 238: 491-97.
- SHASBY, D.M., SHASBY, S.S., SULLIVAN, S.M., PEACH, M.J. (1982).
Role of endothelial cytoskeleton in the control of endothelial
permeability. Circ. Res. 51: 657-61.
- SCHLOERB, P.R.; FRIIS-HANSEN, B.J.; EDELMAN, I.S.; SOLOMON, A.K.
and MOORE, F.D. (1950) The measurement of total body water in
the human subject by deuterium oxide dilution with

consideration of the dynamics of deuterium distribution. J. Clin. Invest. 29: 1296.

SIMIONESCU, M., SIMIONESCU, N. (1984). Ultrastructure of the microvascular wall: functional correlations. In E.M. Renkin, C.C. Michel (Eds): Handbook of physiology. Bethesda. 1984. p41-101.

SIMIONESCU, N. Cellular aspects of transcapillary exchange. (1983) Physiol. Rev. 63: 1536-1640.

SIMIONESCU, N. Studies of the biochemistry of the cell surface of capillary endothelium. In W. Auerwald, H. Sinzinger et K. Widhalm (Eds): Atherogenesis. Mandrich, Munich (1980). P 153-195.

SIMIONESCU, N., HELTIANU, C., ANTOHE, F., SIMIONESCU, M. (1982) Endothelial cell receptors for histamine. Ann. N.Y. Acad.Sci. 401: 132.

SIROIS, MG., JANCAR, S., BRAQUET, P., PLANTE, GE., SIROIS, P. PAF increases vascular permeability in selected tissues: effect of BN-52021, and 1-655,240. Prostaglandins. (1988) 36: 631-36.

- SIROIS, MG., PLANTE, GE., BRAQUET, P., SIROIS P. (1990) Tumor necrosis factor primes the effects of platelet-activating factor on rat vascular permeability. J. Lipid. Mediators 2: s109-112.
- SMITH, H. W. The Kidney. New York: Oxford Univ. Press. (1951) P145-173.
- SMITH J, KAMPIRE JP.(1990). Circulatory Physiology-the essentials. U.S.A. p129-139.
- STARLING, E.H. (1896) On the absorption of fluides from the connective tissue spaces. J. Physiol. 19: 312-26.
- TIGGELER, R. G. W., HULME, B., WIJDEVELD, P. G. A. B. (1979) Effect of indomethacin on glomerular permeability in the nephrotic syndrome. Kidney. Int. 16: 312-321.
- VANBREEMEN, C., AARONSON, P., LOUTZENHISER, R. (1979) Na-Ca interaction in mammalian smooth muscle. Pharmacol. Rev. 30: 606-718.
- VENKATACHALAM, MA., KARNOVSKY, MJ. (1972) Extravascular protein in the kidney: an ultrastructural study of its relation to renal peritubular capillary permeability using protein tracers. Lab. Invest. 27: 435-39.

- VOGT, B. FAVRE, H. (1991) Na-K-ATPase activity and hormones in single nephron segments from nephrotic rats. Clin. Science. 80: 599-604.
- VRIESENDORP, R., DONKER, A.J., de ZEEUW, D., et al. (1985) antiproteinuric effect of naprosen and indomethacin. Am. J. Nephrology. 5: 236-242.
- WARNER, T.D. (1990) Simultaneous perfusion of rat isolated superior mesenteric arterial and venous beds: comparison of their vasoconstrictor and vasodilator responses to antagonists. Br. J. Pharmacol. 22: 427- 33.
- WEENING, J.J, RENNKE, H.G. (1983) Glomerular permeability and polyanion in adriamycin nephrosis in the rat. Kidney Int. 24: 152-159.
- WHITE, G.E., FUJIWARA, K. (1986) Expression and intracellular distribution of stress fibers in aortic endothelium. J. Cell. Biol. 103: 63.
- WIGG H, DeCARLO M, SIBLEYL, RENKIN, EM. (1992) Interstitial exclusion of albumin in rat tissues measured by continuous infusion method. Am. J. Physiol. 263: H1222-33.

WILLIAMSON, H. (1980) Furosemide: new information about an old drug. Drug letter: The University of Iowa hospitals and clinics. 19: 9-11.

WILLIAMSON, H.E., BOURLAND, W.A., MARCHAND, G.R., FARLEY, D.B., and VANORDEN, D.E. (1975) Furosemide induced release of prostaglandin to increase renal blood flow. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 150: 104.

WILSON, T.W., LOADHOTC, C.B., PRIVITERIA, P.J. and HALUSHKA, P.V. (1982). Furosemide increases urine 6-keto-prostaglandin-F12. Hypertension 4: 634-641.

WONG, M.k.k., GOTLIEB, A.I. (1986) Endothelial cell monolayer integrity: I. Characterization of dense peripheral band of microfilaments, Arteriosclerosis. 6: 212.

WONG, A.J., POLLARD, T.D., HERMAN, I. (1983). Actin filament stress fibers in vascular endothelial cells in vivo. Science 219: 867-869.

WYNGAARDEN, J. B., SMITH, L. H. Textbook of Medicine. Saunders Company (ed). philadelphi. (1988) p502-655.

- WYSOLMERSKI RB, LAGUNOFF D. (1990) Involvement of myosin light-chain kinase in endothelial cell retraction. Proc. Nat. Acad. Sci. 87: 16-22.
- YANAGISAWA, M., KURIHARA, H., KIMURA, S., TOMOBE, Y., KOBAYASHI, M., MITSUI, Y., YAZAKI, K., GOTO, K. et MASAKI, T. (1988) A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. Nature. 322: 411-15.
- YIN, H.L., ZANER, K.S., STOSSEL, T.P. (1980). Ca²⁺ control of actin gelation. Interaction of gelsolin with actin filaments and regulation of gelation. J. Biol. Chem. 255: 9494-9500.
- YLITALO, P., PASTERNAK, A., KALLIO, S., et al. (1980) Increased urinary protein excretion after intra venous injection of furosemide in man. Acta Medica Scandinavica. 208: 279-283.
- ZWEIFACH, B.W. Functional Behavior of the Microcirculation. C.C.Thomas. (1961).
- ZWEIFACH, B.W. Basic mechanisms in peripheral vascular homeostasis in transactions of Third Josiah Macy Jr. Conference on factors Regulating Blood Pressure. 1949.